

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

**Studium účinků sunitinibu na cévní endotel
u normotenzních a hypertenzních potkanů**

**Study of Sunitinib effects on vessel endothelium
in normotensive and hypertensive rats**

(rigorózní práce)

Konzultant rigorózní práce

Doc. PharmDr. Petr Nachtigal, PhD

Hradec Králové 2013

Mgr. Marie Žáková

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Praze dne 3. dubna 2013

Mgr. Marie Žáková

„V první řadě bych chtěla poděkovat panu Doc. PharmDr. Petru Nachtigalovi Ph.D. za možnost spolupráce, za poskytnuté odborné rady a konzultaci. Dále bych chtěla věnovat řádek ocenění svému manželovi za toleranci.“

Abstrakt

Mgr. Marie Žáková

Studium účinků sunitinibu na cévní endotel u normotenzních a hypertenzních potkanů

Rigorózní práce

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Farmacie

Cíl práce: Sledovali jsme expresi endotelinu-1 po podávání sunitinibu u normotenzních WKY a hypertenzních SHR potkanů k ověření hypertenzních účinků sunitinibu.

Metody: Použili jsme inbrední kmen spontánně hypertenzních potkanů (SHR) a inbrední kmen normotenzních potkanů (WKY). Každou skupinu jsme rozdělili na kontrolní a zkoušenou. Sunitinib byl podáván v dávce 10mg/kg/den dle aplikačního schématu 8 týdnů/5 dnů pauza/8 týdnů u SHR potkanů a 8 týdnů/5 dnů pauza/2 týdny u WKY potkanů z důvodů zvýšené toxicity. Provedená imunohistochemická analýza sloužila k průkazu množství exprese ET-1. Stereologická analýza nám pak sloužila ke kvantifikaci plochy velikosti endoteliální exprese.

Výsledky: Imunohistochemická analýza neprokázala zvýšenou expresi endotelinu-1 u normotenzních WKY potkanů. Exprese endotelinu-1 byla zvýšená u hypertenzních SHR potkanů. Statisticky významný vzrůst exprese endotelinu-1 u SHR potkanů potvrdila stereologická analýza.

Závěr: Zvýšená exprese endotelinu-1 z podávání sunitinibu byla potvrzena u hypertenzních SHR potkanů imunohistochemickou i stereologickou analýzou. Jakým mechanismem však sunitinib zvyšuje produkci endotelinu-1 je otázkou pro další studie.

Abstract

Mgr. Marie Žáková

Study of Sunitinib effects on vessel endothelium in normotensive and hypertensive rats

Rigorosis thesis

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové
Pharmacy

Background: The aim of this rigorosis thesis was to evaluate expression of the endothelin-1 in normotensive WKY and hypertensive SHR rats to verify hypertensive effects of sunitinib.

Methods: We used inbred strain of spontaneously hypertensive rats (SHR) and inbred strain of normotensive (WKY) rats. Each of these two groups were divided into 2 groups (control and examined rats). Both groups were fed with sunitinib 10mg /kg/day, application schema for SHR rats was 8 weeks/5 days off /8 weeks and for WKY rats 8 weeks/5 days off /2 weeks for reason of high toxicity. The aim of the immunohistochemical analysis was to approve the amount of endothelin-1 expression, the aim of the stereologic analysis was to quantify the area of endothelin expression.

Results: Immunohistochemical analysis did not demonstrate increased expression of endothelin-1 in normotensive WKY rats. Expression of endothelin-1 was increased in hypertensive SHR rats. Stereological analysis approved statistically significant increase in endothelin-1 expression in SHR rats.

Conclusion: The effect of sunitinib treatment on the increased endothelin-1 expression was approved in hypertensive SHR rats by immunohistochemical and stereological analysis. The mechanism how sunitinib affects endothelin-1 production is still a question for further studies.

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	ARTERIÁLNÍ HYPERTENZE.....	10
2.1	EPIDEMIOLOGIE	11
2.2	ETIOPATOGENEZE AH	12
2.3	ETIOPATOGENEZE ESENCIÁLNÍ HYPERTENZE	12
2.3.1	Rizikové faktory.....	12
2.4	PATOFYZIOLOGIE ESENCIÁLNÍ HYPERTENZE.....	16
2.4.1	Regulační systémy	18
2.4.2	Úloha ledvin a nadledvin	23
2.4.3	Úloha RAAS	24
2.4.4	Úloha sympatického nervového systému	26
2.4.5	Úloha vazoaktivních působků.....	27
2.5	SEKUNDÁRNÍ HYPERTENZE	29
2.5.1	Renální hypertenze.....	30
2.5.2	Endokrinní hypertenze	30
2.5.3	Iatrogenní hypertenze.....	31
2.5.4	Hypertenze v těhotenství	32
2.5.5	Hypertenze u koartace aorty.....	32
2.5.6	Neurogenní příčiny hypertenze	32
2.5.7	Hypertenze u syndromu spánkové apnoe (SSA)	33
2.6	KOMPLIKACE Z AH	34
2.6.1	AH a tepenný systém.....	35
2.6.2	AH a srdce	36
2.6.3	AH a metabolismus	37

2.6.4	Hypertenzní krize	38
3	SUNITINIB	39
4	ENDOTELIN	43
5	CÍL PRÁCE (ZADÁNÍ).....	46
6	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	47
6.1	ZVÍŘATA A PŘEDEPSANÁ DIETA	47
6.2	IMUNOHISTOCHEMIE	47
6.2.1	Pracovní postup	48
6.3	STEREOLOGICKÁ ANALÝZA.....	49
6.4	STATISTICKÁ ANALÝZA	50
7	VÝSLEDKY	51
7.1	IMUNOHISTOCHEMICKÉ BARVENÍ ENDOTELINU V AORTĚ	51
7.2	STEREOLOGICKÁ ANALÝZA EXPRESE ENDOTELINU V AORTĚ	54
8	DISKUZE	56
9	ZÁVĚR.....	58
10	SEZNAM ZKRATEK	59
11	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	62

1 ÚVOD

Arteriální hypertenze (AH) je choroba řadící se v rozvinutých i průmyslových zemích k nejčastějším příčinám morbidity a mortality. Patří mezi nejčastější kardiovaskulární onemocnění (KVO) (1, 2). Zároveň je řazena k nejzávažnějším rizikovým faktorům KVO, neboť se podílí na rozvoji dalších KVO. Jsou-li přítomny vedle AH i jiné rizikové faktory, jejichž výskyt je podle statistik v přítomnosti AH vyšší, vzroste i riziko výskytu KVO. K aditivním rizikovým faktorům patří například dyslipidémie, vyšší věk, rodinná anamnéza, kouření a mnohé další (3).

Z nejvýznamnějších onemocnění, která se přítomností AH mohou rozvinout, jmenujme ischemickou chorobu srdeční (ICHS), cévní mozkovou příhodu (CMP) a ischemickou chorobu dolních končetin (ICHDK). Kardiovaskulární a cerebrovaskulární morbidita a mortalita má dle metaanalýz na výši krevního tlaku závislost (4).

Příčinou ICHS, CMP i ICHDK bývá nejčastěji ateroskleróza tepen (5). Aterosklerózu (ATS) charakterizuje zánětlivé onemocnění cévní stěny. Krevní tlak, dosáhne-li vyšších hodnot, naruší endotel cév a přidají-li se další rizikové faktory, proces aterogeneze může začít (6).

Největší procento z úmrtí na KVO zaujímá ischemická choroba srdeční (ICHS). ICHS je onemocnění charakterizované jako ischémie myokardu.

Dalším onemocněním s podobnou etiologií je CMP. I zde stojí na počátku několik rizikových faktorů s AH jako nejvýznamnější v čele (7). Vysoký tlak může také zapříčinit mikroaneuryzmata s hemoragickým iktem v důsledku subarachnoideálního a intracerebrálního krvácení.

Vzácně jsou též poškozeny artérie očního pozadí (3).

Avšak AH nepoškozuje pouze endotel (7). Výsledkem působení AH je orgánové poškození zapříčiňující kardiovaskulární, cerebrovaskulární a renální komplikace, které invalidizují a vedou k úmrtí obyvatel (1, 2, 8). Například tlaková zátěž na glomeruly může dohnat stav až k renální insuficienci (3).

AH je způsobena řadou faktorů. Etiopatogeneze onemocnění však není vždy známa. Z tohoto poznatku vzniklo i rozdělení AH. Mezi známé příčiny můžeme zařadit AH vzniklou působením nežádoucích účinků léků, tedy iatrogenní příčiny onemocnění. Mezi takovéto patří i sunitinib, lék určený primárně k léčbě karcinogenních onemocnění.

2 ARTERIÁLNÍ HYPERTENZE

Arteriální hypertenze se posuzuje minimálně při dvou různých návštěvách lékaře jako opakovaně zjištěné zvýšení tlaku krve nad 140/90 mm Hg a to alespoň u dvou ze tří měření. Na této definici se shodla kritéria WHO/ISH (World International Organization/International Society of Hypertension) z roku 1999 a zároveň doporučení ESH/ESC (European Society of Hyperzension/European Society of Cardiology), která byla stanovena roku 2003.

Většinou tedy dochází ke zvýšení jak systolického tlaku krve (sTK) tak diastolického tlaku krve (dTK). Existuje ale také izolovaná systolická hypertenze, kdy se zvýší systolický tlak krve nad 140 mm Hg, zatímco diastolický je nižší jak 90 mm Hg. Tento jev pozorujeme často zvláště u starší populace. Zvýšení diastolického tlaku krve má menší prognostický význam z hlediska kardiovaskulárních komplikací než izolovaná systolická hypertenze (7).

Podle kritérií WHO a EHS je hypertenze rozdělena dle výše naměřeného krevního tlaku na mírnou hypertenzi, střední hypertenzi a těžkou hypertenzi. Za mírnou hypertenzi považujeme hodnoty tlaku krve (TK) 140-159/90-99 mm Hg. Hodnoty 160-179/100-109 mm Hg klasifikujeme jako střední hypertenzi a jako těžkou hypertenzi označujeme hodnoty TK $\geq 180/110$ mm Hg (2, 9).

Mimo hypertenzi rozlišujeme také optimální, normální a vyšší normální tlak krve. Jedná se o hodnoty výše tlaku krve do 139/89 mm Hg. Zmiňovanou oblast můžeme souhrnně označit jako normotenzi. I v rozmezí normotenze záleží prognóza jedinců dle populačních studií na výši naměřeného krevního tlaku (2).

Tab. 1 Klasifikace AH podle WHO a EHS (2, 4)

Kategorie	Krevní tlak v mm Hg	
	systolický	diastolický
Optimální tlak krve	< 120	< 80
Normální tlak krve	120 - 129	80 - 84
Vysoký normální tlak krve	130 – 139	85 - 89
Mírná hypertenze – 1. stupeň	140 – 159	90 – 99
Střední hypertenze – 2. stupeň	160 – 179	100 – 109
Těžká hypertenze – 3. stupeň	≥ 180	≥ 110
Izolovaná systolická hypertenze	≥ 140	< 90

2.1 Epidemiologie

Hypertenze byla v roce 2000 zaznamenána u 26 % obyvatel a s projekcí do dalších let se její přítomnost má zvyšovat. Nejvyšší počet nemocných žen byl zaznamenán v postkomunistických zemích, zatímco u mužů to byla Latinská Amerika a Karibik. Naopak nejméně hypertoniků bychom našli v Asii, konkrétněji v Thajsku, Tchaj-wanu a Korei (10). Zajímavé je zjištění, že krevní tlak je v Americe vyšší u černošské populace nad bělošskou (11).

Výskyt hypertenze je ve vyspělých státech vyšší, ohrožuje 37 % obyvatel. Je třeba si ale uvědomit, že ačkoliv v rozvojových státech jí trpí 23 %, žije zde mnohem více obyvatel (10).

S věkem prevalence hypertenze vzrůstá. Mezi 20-25-letými činí prevalence maximálně 5 %, u 40 – 45-letých již jedna třetina, nad 65 let přes 60 % lidí.

Ve středním věku je detekován vyšší výskyt onemocnění u mužů. U postmenopauzálních žen se však výskyt zvyšuje a počet postižených žen muže dokonce převyšuje (8).

2.2 Etiopatogeneze AH

Z hlediska etiopatogeneze můžeme arteriální hypertenzi dělit na primární a sekundární hypertenzi. U primární hypertenze přesnou příčinu vzniku onemocnění neznáme, známe jen řadu patogenetických mechanismů. Etiologie onemocnění je tedy multifaktoriální. Je kombinací faktorů dědičných, faktorů zevního prostředí a neurohumorálních působků. Zaujímá 95 % případů hypertenze.

Naopak sekundární hypertenze je způsobena známou příčinou. Obvykle se jedná o ledvinové či endokrinní onemocnění. Sekundární hypertenze je vzácnější, jedná se pouze o 5 % případů (8, 12, 13).

2.3 Etiopatogeneze esenciální hypertenze

2.3.1 Rizikové faktory

➤ Genetické faktory

Esenciální hypertenze se neřídí klasickými Mendelovými pravidly dědičnosti. Na vzniku onemocnění se podílí řada genů a proto má z hlediska genetického esenciální hypertenze polygenní typ dědičnosti (12). Tyto geny interagují vzájemně mezi sebou, s humorálními i strukturálními mechanismy i s faktory zevního prostředí.

Z těchto důvodů se dnes studují tzv. odchylky (polymorfismy), nebo-li kandidátní geny. Zejména se jedná o geny kódující působky, které fyziologicky regulují tlak krve. Mezi takové můžeme zařadit katecholaminy, systém renin-angiotenzin-aldosteron, vazodilatační a vazokonstrikční působky.

Polymorfismy v genotypu nezvyšují tlak krve přímo, ale expresí různých kardiovaskulárních regulačních působků. Tyto mechanismy pak tvoří tzv. intermediální fenotyp. Teprve působením zevního prostředí se vztah genotypu a fenotypu realizuje rozdílně u různých jedinců (13).

➤ *Faktory zevního prostředí*

Studiemi podložené zevní faktory jsou zvláště zvýšený přívod soli a snížený přívod vápníku, draslíku a hořčíku. Dále můžeme jmenovat zvýšený kalorický příjem s obezitou, nadměrnou konzumaci alkoholu, ale také socioekonomický stav a časté stresové situace (12,13).

⇒ *Nadměrný přívod sodíku*

Vzrůst příjmu sodíku a vzestup krevního tlaku je ve většině populací signifikantní jev. Existuje však velká variabilita v nálezů nátría v moči mezi individui (14). Tato variabilita nemůže být způsobena pouze zvýšeným přívodem sodíku, ale neschopností eliminace sodíku ledvinami. Příkladem může být renální hypertenze či zvýšená exkrece aldosteronu, jenž podporuje tubulární reabsorpci (13). Citlivěji reagují například starší lidé, pacienti s diabetem a Afroameričané (15).

Průměrný tlak krve zůstává nízký u populace s přívodem sodíku pod 50 mmol na den, což činí 3 g soli na den. Dokonce chybí typický vzestup tlaku krve se vzrůstajícím věkem. Naopak je-li příjem sodíku vyšší jak 100 mmol na den, tedy 6 g soli denně, vzestup tlaku je signifikantní, zvláště se zvyšujícím se věkem (13).

⇒ *Nedostatečný přívod draslíku, vápníku a hořčíku*

Zvýšený příjem draslíku snižuje systolický tlak krve i diastolický tlak krve. Tento fakt je evidentní zvláště u hypertoniků. Dokonce bylo studiemi podloženo, že čím vyšší je přívod draslíku, tím více klesá krevní tlak. Draslík má také kardioprotektivní účinek a snižuje riziko cévní mozkové příhody.

Dle observačních studií zvýšený příjem kalcia a magnesia také ovlivňuje pozitivně výši krevního tlaku (13).

⇒ *Konzumace alkoholu*

Zvýšený příjem alkoholu zvyšuje krevní tlak. Dle studií je signifikantní zvýšení tlaku zaznamenáno již při konzumaci čtyř a více alkoholových nápojů denně (16). Přílišný přívod alkoholu může být

příčinou rezistence léčby antihypertenzivy, neboť alkohol ve zvýšené míře patří k důležitým rizikovým faktorům (17). Z těchto důvodů se doporučuje u nemocných hypertenzí snížit denní konzumaci alkoholu pod 20 g u žen a 30 g u mužů (13).

⇒ *Kouření*

Ačkoliv kouření dle studií nepatří k rizikovým faktorům arteriální hypertenze, je doporučováno zanechat této činnosti vzhledem ke vztahu hypertenze a ICHS (13).

⇒ *Dyslipidémie*

Dyslipidémie stejně jako kouření nepatří mezi základní rizikové faktory hypertenze. Patří ale mezi základní rizikové faktory aterosklerózy podobně jako ve výše uvedeném případě. A protože hypertenze zvyšuje riziko kardiovaskulárních chorob, je doporučeno se na dyslipidémii též zaměřit. Navíc má-li pacient dyslipidémii, bývají u něho zjištěny další rizikové faktory, jako jsou vyšší hmotnost a snížená fyzická aktivita, inzulinorezistence, Reavenův metabolický syndrom či diabetes mellitus (13).

⇒ *Obezita*

Ve světě a tedy i v České republice se stoupajícím body mass indexem (BMI) stoupá i krevní tlak a vzniká hypertenze (18). Prevalence u obézních osob činí 50 %.

Důležitý faktor obezity je jak zvýšený přívod energie, tak distribuce tuků v těle. Abdominální obezita s poměrem obvodu pasu a boků činící u žen více než 0,85 a u mužů 0,95, tedy obvod pasu nad 88 cm u žen a 100 cm u mužů, patří k alarmujícím hodnotám rizika hypertenze. S abdominální obezitou si spojujeme riziko hyperinzulinémie až inzulinové rezistence, a také dyslipidémii. Může být součástí Reavenova metabolického syndromu (13).

Hypertenze se ve spojitosti s obezitou rozvíjí v důsledku zvýšené sympatoadrenální aktivity, zvýšeného přívodu sodíku a citlivosti na sodík. Vliv má také právě inzulinorezistence (12).

Fyzickou aktivitou a omezením příjmu energie dosáhneme nejúčinnějšího nefarmakologického účinku v léčbě hypertonika. Klesne-li totiž pacientovi s hypertenzí tělesná hmotnost, poklesne i tlak a u lehčích forem hypertenze dochází až ve 20 % případů k trvalé normalizaci krevního tlaku (13).

⇒ *Fyzická aktivita*

Výrazného poklesu krevního tlaku můžeme dosáhnout pravidelnou dynamickou zátěží střední intenzity. Bylo zjištěno, že průměrný pokles tlaku činil 3,8/2,4 mm Hg. Tento pokles byl oproti normotonikům (-2,6/-1,8) významný zvláště u hypertoniků (-7,4/-5,8) (19).

Význam má zejména aerobní dynamická aktivita. Dynamicky musí pracovat alespoň 40 % kosterních svalů. Pokles o 5-7 mm Hg je u hypertoniků zaznamenaný už po jednom cvičení a přetrvat může až 22 hodin (20).

⇒ *Stres*

Je-li osoba geneticky predisponovaná, mohou opakované stresové situace způsobovat zvýšení krevního tlaku až manifestaci hypertenze. Toto zjištění je podloženo mnoha studiemi, podle nichž esenciální hypertenzí trpívají častěji lidé pracující ve stresovém prostředí. Klinická manifestace závisí na intenzitě a délce trvání stresu. Dále záleží také na genetice, neboť dochází k individuální citlivosti (13).

⇒ *Sociální třída*

Britskou studií bylo zjištěno, že nekvalifikovaní dělníci mají v porovnání s duševně pracujícími vyšší systolický tlak (21). Ostatně u osob s nižším vzděláním se setkáváme s dalšími rizikovými faktory, jako jsou nižší fyzická aktivita či obezita (18). Odlišně socioekonomicky

postavení lidé se liší rozdílným životním stylem, dietou, úrovní poskytované zdravotní péče a dostupností znalostí o prevenci (12).

⇒ *Teplota okolí*

Ve Velké Británii byly zaznamenány regionální rozdíly ve výši tlaku ve Skotsku a severní Anglii oproti jižní Anglii. Bylo zjištěno, že nižší teploty okolí jdou v ruku v ruce s vyšším průměrným krevním tlakem (18).

2.4 Patofyziologie esenciální hypertenze

Krevní tlak musí mít určité hodnoty (12), proto je úzce regulován. Jsou-li jeho hodnoty nižší, dochází k nedostatečné orgánové perfuzi, vedoucí k dysfunkci až k odumření tkání. Naopak vyšší tlak krve sice umožní zásobení tkání a orgánů, ale v míře, která vede k poškození cév a orgánů (22). Fyziologické hodnoty jsou udržovány funkčními a strukturálními změnami rezistenčních cév. Tyto změny jsou působeny mnoha mechanismy: krevním objemem, stahem cév, baroreceptorovými reflexy, hormonálními a neurogenními vlivy působenými ledvinami a endokrinními orgány. Významnou roli v regulaci krevního tlaku hrají také systém renin-angiotenzin-aldosteron, autonomní regulační systém a místní tkáňové působky. Tyto systémy jsou regulovány tzv. pozitivní a negativní zpětnou vazbou (12).

Zjednodušeně řečeno, téměř u každého typu rezistence se setkáváme s nemístnou aktivitou systému renin-angiotenzin-aldosteron a sympatického nervového systému a se sníženým vylučováním sodíku ledvinami (23).

Minutový srdeční výdej a periferní cévní rezistence. Krevní tlak je součinem minutového srdečního výdeje (MSV) a periferní cévní rezistence (PCR). Zvýší-li se systémová vaskulární rezistence, zvýší se tlak krve a stejně tak dojde-li k nárůstu srdečního výdeje, stoupne hodnota krevního tlaku (12). Hypertenze je tedy onemocnění zvýšené

periferní rezistence, což je jev častější, či zvýšeného srdečního výdeje (23).

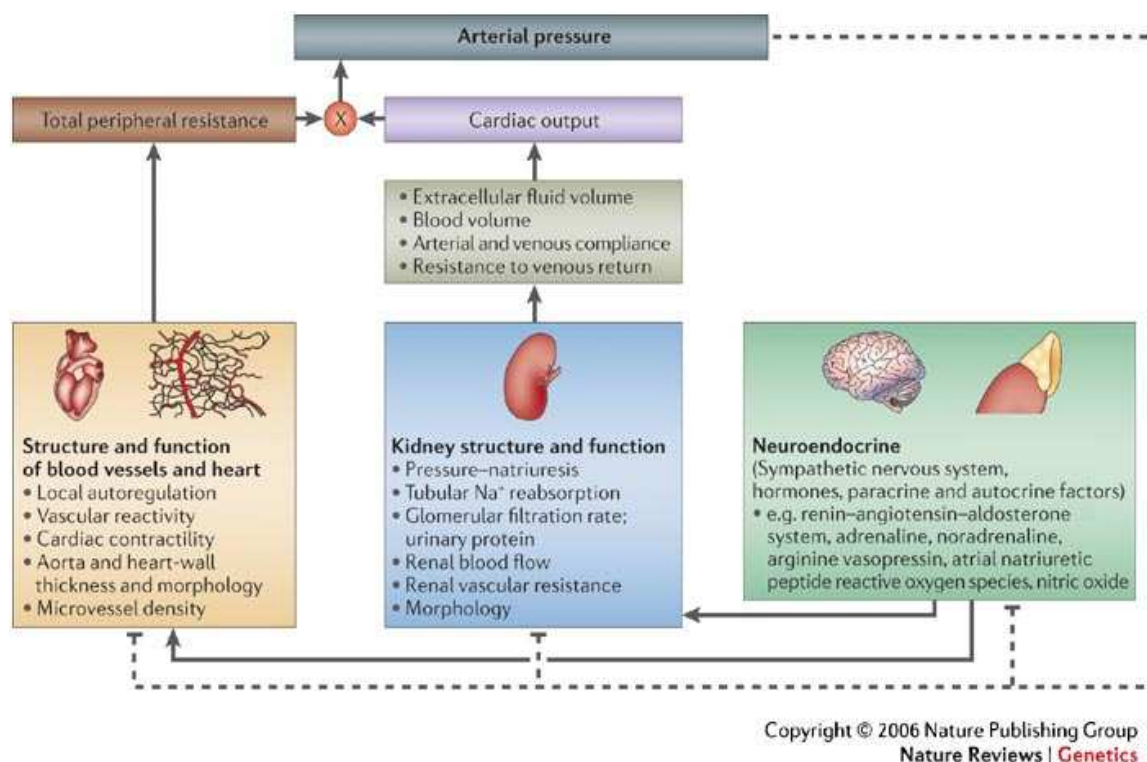
Krevní tlak fyziologicky není statická veličina, neboť se obě veličiny, jak srdeční výdej, tak periferní rezistence, během dne mění. K tomuto jevu dochází jak u zdravých tak u nemocných (12).

Abychom chápali, proč se krevní tlak mohl zvýšit a dosáhnout patologických hodnot, je třeba znát faktory, které mohly zvýšit srdeční objem a které periferní rezistenci. Hodnoty srdečního výdeje ovlivňují faktory týkající se samotného srdce. Jsou jimi výše srdeční frekvence a kontraktilita levé komory. Dále pak nesmíme zapomenout na krevní objem. Hodnota krevního objemu je v přímé úměře s koncentrací sodíku v krvi. Zde tušíme vliv mineralokortikoidů a proti němu stojícího natriuretického peptidu (22).

Výše periferní rezistence je ovlivněna vyšší tonu arteriol, nebo-li rezistenčních cév. Tonus je řízen humorálními a neurogenními působky. Vaskulární tonus balancuje mezi vazodilatačními působky, tvořenými kininy, NO a prostaglandiny a mezi vazokonstrikčními působky. Vazokonstrikční působky zahrnují katecholaminy, angiotenzin II. a endotelin. Důležitou roli v regulaci napětí odporových cév hraje autoregulace. Při vyšším průtoku krve dochází k vazokonstrikci, aby přílišná perfuze nepoškodila cílové orgány. Nízké pH, hypoxie a β -adrenergní systém zajišťují naopak adekvátní perfuzi orgánům (24). Vazokonstrikci také zvyšuje α -adrenergní systém. Dalším faktorem způsobujícím vyšší hodnoty periferního tlaku je vedle stahu odporových cév také růst hladkého svalstva cév, tedy strukturální hypertrofie cév (22).

Toto rozdělení nelze brát absolutně. Jak bude níže vidět na obrázku, jednotlivé determinanty mohou ovlivňovat vyšší arteriálního tlaku přes PCR i MSV (25).

Obrázek 1: Vztah srdečního výdeje a periferní rezistence (25)



Na obrázku jsou vyjmenované hlavní typy strukturálních a funkčních změn, které ovlivňují výši krevního tlaku. Faktory, které ovlivňují jednotlivé parametry krevního tlaku se prolínají a nedají se absolutně rozdělit.

<http://www.nature.com/nrg/journal/v7/n11/images/nrg1967-f1.jpg> (22. 12. 2012)

2.4.1 Regulační systémy

Rozlišujeme čtyři základní mechanismy regulace TK. Systémy regulace TK se navzájem ovlivňují a kooperují (7).

1. Systémy okamžité regulace tlaku krve (tzv. tep po tepu)

Tento systém jsme již lehce zmínili výše. K okamžité regulaci dochází v srdci a v cévách. Způsob regulace funguje v obou místech odlišně. V srdci dochází k regulaci stylem tep po tepu. Využívá se změn srdečního výdeje pomocí síňových mechanismů a dále Starlingovým mechanismem (7). Síňovými mechanismy dochází k ovlivňování žilního návratu, kdy tzv. Bainbridgeovým reflexem dochází ke zvýšení srdeční

frekvence při zvýšení plnicího tlaku pravé síně (26, 7). Srdeční výdej zvyšuje i Starlingův mechanismus. Tímto mechanismem na základě změn náplně komor jsou tyto schopny změnit systolický objem (SO). Zvýšením SO a tepové frekvence dochází ke zvýšení MSV (7).

V cévách je pomocí myogenní autoregulace též udržován stálý průtok krve i při kolísání TK. Při vyšších hodnotách tlaku krve se hladké svaly cév stáhnou a dochází k vazokonstrikci. Myogenní typ autoregulace je důležitý zvláště pro mozek a ledviny (27).

2. Systémy krátkodobé regulace (sekundy až desítky sekund)

Systémy krátkodobé regulace umožňují přesné a rychlé ovlivnění hodnot krevního tlaku. Patří sem reflexy.

Tlak krve je řízen nervovými a hormonálními regulacemi. Hormonální typ regulace však řadíme spíše pod střednědobou regulaci. Pod nervovými regulacemi si představme vegetativní nervový systém, konkrétněji především sympatikus. Jeho mediátor noradrenalin zprostředkovává vazokonstrikci. V cévách a srdci jsou umístěny receptory, které monitorují stav oběhu. Aferentními dráhami pak receptory vedou informaci do prodloužené míchy, ve které sídlí vazomotorická centra. Vazomotorická centra pak vysílají pokyny do srdce a cév pomocí eferentních drah (28).

Sympatikus řídí cévní reflexy. Nejvýznamnější jsou baroreceptorové reflexy (26). Vysokotlaké baroreceptory nalezneme především v karotickém sinu a aortálním oblouku (7).

Stoupne-li krevní tlak, tyto mechanoreceptory se stimulují a aferentními dráhami vyšlou do mozkového kmene signál, na něhož centra reagují poklesem aktivity sympatiku a aktivací parasympatiku. Poklesu tlaku krve je dosaženo snížením minutového srdečního výdeje a periferní rezistence. Tento mechanismus funguje samozřejmě i při poklesu tlaku krve opačným způsobem (28).

Nízkotlaké receptory se nacházejí především v plicnici a v oblasti pravé síně. Dojde-li k poklesu centrálního objemu krve, aktivuje se

prostřednictvím těchto kardiopulmonálních receptorů adrenergní nervový systém. V důsledku těchto reflexů stoupne krevní objem a tím i krevní tlak (7).

Na změny pH a parciálního tlaku oxidu uhličitého a kyslíku reagují periferní a centrální chemoreceptory (27). Za zmínění též stojí ischemické reflexy centrální nervové soustavy (CNS) a respiračně-kardiovaskulární reflexy (7).

3. Systémy střednědobé regulace (minuty až desítky minut).

Systémy střednědobé regulace tvoří jako nejdůležitější zástupce humorální regulační systémy, dále sympatickým autonomní nervovým systémem (SANS) navozená reabsorpce sodíku v tubulech a stresem navozená relaxace vén, uplatňující se nejspíše pouze ve velkokapacitním řečišti. Humorální působky mají kromě přímého účinku na TK další funkce, jako modulátory nervového přenosu ovlivňují též systémy okamžité, krátkodobé i dlouhodobé regulace (29). Působků je celá řada, vyjmenujeme si pouze ty nejvýznamnější.

Důležitým regulačním mechanismem je renin-angiotenzin-aldosteronový systém (RAAS). RAAS stojí na pomezí rychlé a pomalé regulace tlaku krve, proto je některými autory řazen k střednědobé regulaci spolu s dalšími humorálními systémy, které budou zmíněny v dalších odstavcích. Časově si pod střednědobou regulací představme minuty až desítky minut (7, 27).

Hlavní roli v systému RAA hraje angiotenzin-II. Proces jeho vzniku bude popsán níže. Zmíním alespoň, že produkt RAAS angiotenzin-II má silný vazokonstrikční efekt na rezistenční cévy, stimuluje uvolňování aldosteronu a aktivuje sympatikus. Celý tento proces trvá přibližně dvacet minut (26).

Dalšími neopomenutelnými zástupci střednědobé regulace jsou neurotransmiter noradrenalin a hormon dřeně nadledvin adrenalin. Reakce na katecholaminy je dána typem adrenergních receptorů přítomných v hladkém svalstvu cév (27). Inervace sympatiku je bohatá

zvláště v arteriolách ledvin, splachniku, kosterních svalech a kůži. Zde nalezneme především α_1 receptory. Arterioly kosterních svalů a věnčitých cév jsou bohaté na β_2 receptory. V srdci se vyskytují β_1 receptory (26). α_2 receptory se v oběhové soustavě téměř nevyskytují (27).

Stimulace β_2 receptorů vyvolává vazodilataci, aktivace α_1 receptorů naopak způsobuje vazokonstrikci. Noradrenalin působí pouze na α receptory, proto jeho přítomnost v krvi způsobuje pouze vazokonstrikci. Adrenalin působí na α i β receptory, proto zajišťuje vazokonstrikci i vazodilataci. Důležité je ale vědět, že adrenalinu k aktivaci β receptorů stačí menší koncentrace. Zvýší-li se koncentrace, aktivuje sice oba typy receptorů, ale vazokonstrikční účinek na α receptorech převládne. Adrenalin působením na α i β receptory v konečném důsledku tlak krve neovlivní. Zvýšení tlaku krve tedy dokáže způsobit pouze noradrenalin.

Na arteriální tlak má též vliv endotelin. Působí místně vazokonstrikčně, dále má pozitivní chronotropní a ionotropní účinek na srdce. Má tedy účinek na místní i celkové regulační mechanismy tlaku krve (27).

Účinky RAAS a snad i endotelinu antagonizuje atriální natriuretický peptid (ANP). Jeho exkrece z předsíní je stimulována zvýšeným žilním návratem, který zvyšuje napětí na stěny předsíní. ANP má též přímý vazodilatační účinek (26). Jeho natriuretický efekt je autory řazen k pomalým regulačním mechanismům (7, 26). Natriuretický efekt totiž způsobuje zvýšené ztráty natria a vody. Kromě ANP (produkovaným myocyty), existuje též natriuretický peptid typu B (BNP) tvořený komorovým myokardem a cévní natriuretický peptid typu C (CNP) exkretovaný cévním endotelem (26).

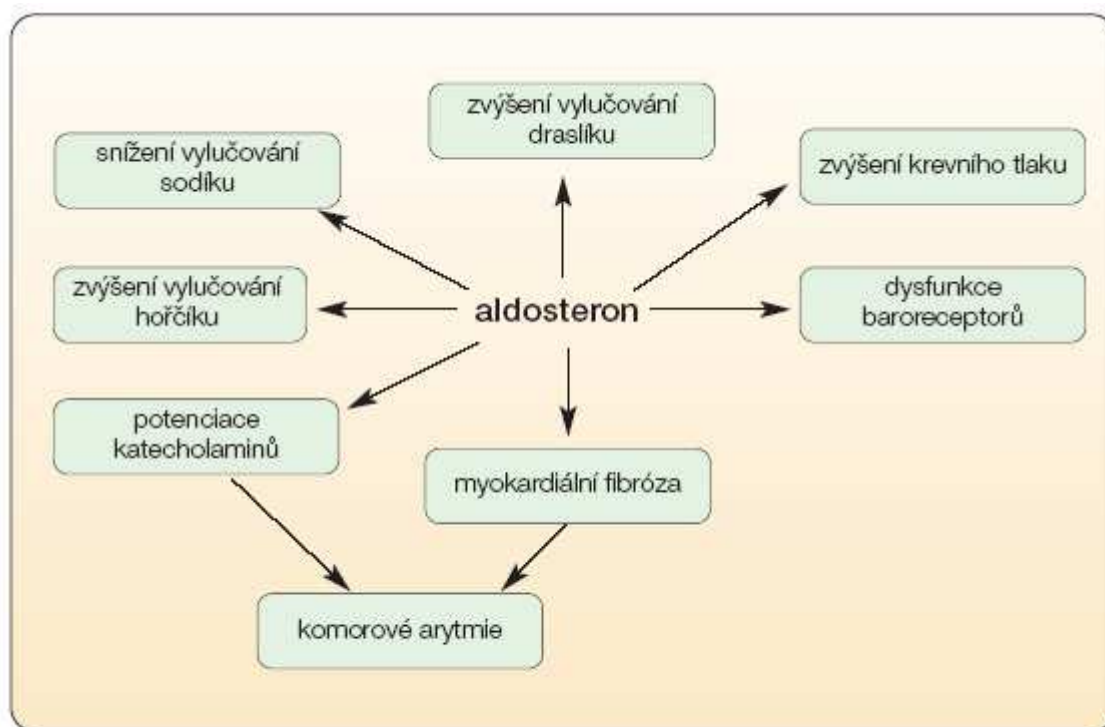
4. Systémy pomalé (dlouhodobé) regulace (hodiny až dny)

Dlouhodobá regulace TK by měla udržet hodnoty tlaku krve v nastavených mezích.

Dlouhodobé regulační mechanismy hospodaří s vodou a elektrolyty a tím řídí celkový objem krve. Vliv mají především na plnicí tlak, čerpací funkci srdce a žilní návrat.

Nejvýznamnější dlouhodobý účinek na tlak krve má aldosteron, hormon kůry nadledvin. Aldosteron zvyšuje vychytávání sodíku a tím i vody, dále zlepšuje senzitivitu hladkých svalů cév na angiotenzin II (26).

Obrázek 2: Účinky aldosteronu (30)



Obr. 2 Důsledky působení aldosteronu v organismu.

<http://www.remédia.cz/Images/Articles/Main/vtextu2006110610351.jpg> (30. 10. 2012)

Nezapomeňme též na natriurézu, zmíněnou výše. Natriuréza je považována za nejdůležitější typ dlouhodobé regulace TK (7).

Reabsorpci vody zvyšuje též antidiuretický hormon (ADH), nebo-li vazopresin. Vazopresin je schopen při vyšších dávkách způsobit vazokonstrikci.

Jako poslední pomalý typ regulace si uvedeme množství tekutiny vyloučené ledvinami, což je čistě mechanický efekt. Při vyšším tlaku krve totiž dochází ke zvýšení filtrace v ledvinách a vyššímu vylučování moči. Tím se sníží žilní návrat krve do srdce a minutový srdeční výdej. Celkově tedy dochází k poklesu tlaku krve (26).

2.4.2 Úloha ledvin a nadledvin

Ledviny a nadledviny regulují cévní tonus a objem krve. Tyto orgány hrají hlavní roli při regulaci tlaku krve (22). Na regulaci krevního tlaku se podílejí jako zdroj vazoaktivních působků a svou exkretorickou funkcí. Exkretorickým působením řídí volumovou a sodíkovou homeostázu. Na regulaci tlaku se tedy ledviny účastní dvojím mechanismem (12).

Ledviny působí na hodnoty tlaku krve především pomocí RAAS. Díky RAAS ledviny ovlivňují zvláště homeostázu sodíku a periferní rezistenci. Při poklesu tlaku krve a krevního objemu reagují ledviny poklesem tlaku v aferentní arteriole, sníženou glomerulární filtrací a zvýšenou reabsorpcí sodíku v proximálních tubulech.

Denně je ledvinami profiltrováno 170 litrů vody s 2,3 moly soli. 99,5 % množství musí být zfiltrováno zpět pro udržení homeostázy. Důležitou úlohu zastává právě RAAS.

Ledvinami jsou produkovány prostaglandiny a oxid dusnatý (NO). Prostaglandiny a NO jsou antihypertenzivní látky způsobující relaxaci cév a antagonizují tedy účinek RAAS.

Při poškození exkretčních funkcí ledvin dochází ke kompenzačním mechanismům. Jejich působením se zvýší tlak krve, který by měl obnovit sodíkovou a volumovou rovnováhu (22).

2.4.3 Úloha RAAS

V důsledku poklesu intraluminálního tlaku ve vas afferens a zaznamenání nižší koncentrace sodíku v distálních tubulech pomocí macula densa buněk dochází k produkci reninu. Enzym renin jakožto hormon juxtaglomerulárního systému ledvin rozštěpí angiotenzinogen (bílkovinný peptid) na angiotenzin-I (dekapeptid). Dále přichází především v plicích ke slovu angiotenzinogen konvertující enzym (ACE), jenž odštěpí z angiotenzinu-I dva peptidy za vzniku oktapeptidu angiotenzinu-II (26). Vlivem angiotenzinu-II. se začne ze zona glomerulosa vylučovat mineralokortikoidní hormon aldosteron. Hlavní funkcí aldosteronu je obnovovat krevní objem, čehož dosáhne vyvoláním retence vody a natria v distálních tubulech. Celý proces je řízen zpětnou vazbou (31). Angiotenzin II. navíc aktivuje sympatikus (26).

Renin a ACE tedy přemění angiotenzinogen až na angiotenzin II., který je schopen zvýšit tlak krve pomocí působení na hladkou svalovinu cév. Hladká svalovina cév prostřednictvím své kontrakce zvýší periferní rezistenci.

Sekrece reninu je řízena třemi mechanismy:

Intrarenální mechanismy. K intrarenálním mechanismům patří tři zástupci. Zaprvé v ledvinách dochází v aferentních arteriolách k detekci změn periferního tlaku. Dále v macula densa zaznamenává sodíkový receptor koncentraci nátria v distálních tubulech. Na řízení sekrece reninu se podílejí též prostaglandiny.

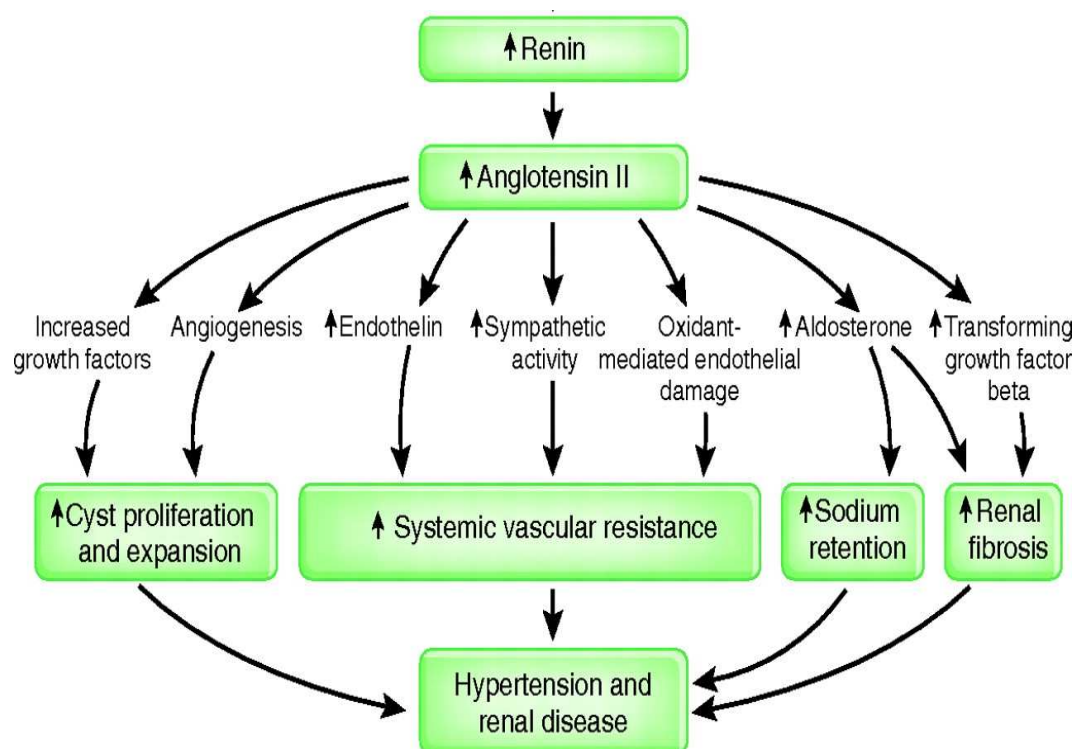
Autonomní faktory. Katecholaminy a nervové impulzy též stimulují vylučování reninu pomocí renálních nervů.

Humorální účinky. Vylučování reninu vyvolává též vazopresin, angiotenzin, elektrolyty a adrenergní impulzy z vyšším mozkových center (8).

Tab. 2 Tři hlavní mechanismy zvýšení krevního tlaku působením RAAS (31)

Přímá vazokonstrikce
Zvýšená aktivita sympatiku
Zvýšená sekrece mineralokortikoidů

Obrázek 3: Důsledky zvýšené tvorby angiotenzinu II (32)



Vlivem zvýšené tvorby angiotenzinu II dochází k poškození ledvin a hypertenzi vlivem zvýšené buněčné proliferace, renální fibrózy, ke zvýšené vaskulární rezistenci a k vychytávání sodíku. Na zvýšenou vaskulární rezistenci má vliv i vyšší tvorba endotelinu.

<http://jasn.asnjournals.org/content/20/9/1888/F4.large.jpg> (22. 12. 2012)

2.4.4 Úloha sympatického nervového systému

Jako významný etiologický faktor vzniku hypertenze je považována zvýšená aktivita sympatického nervového systému (33). Bylo zjištěno, že zvýšená aktivita sympatického nervového systému u mladých hypertoniků souvisí s jejich emoční nestabilitou a dlouhodobým stresem. Tito jedinci mají zvýšenou hladinu plazmatického noradrenalinu, vyšší tepovou frekvenci a srdeční výdej (34, 35, 36). Noradrenalin má významné lokální účinky v ledvinách, do plazmy se téměř nedostává. Oproti tomu u setrvalé hypertenze není hladina noradrenalinu v plazmě na rozdíl od mladší populace vyšší (12).

Obecně byla prokázána zvýšená činnost sympatiku nejen v souvislosti s chronickým stresem, ale i vlivem zevního prostředí, jako je zvýšený příjem soli (37, 38).

Chronická aktivace sympatiku má na organismus komplexní následky. Dochází ke kumulativní stimulaci nervového systému. V hypotalamu se snižuje činnost parasympatiku a zvyšuje se aktivita sympatiku. Odtud se dysfunkce šíří do hypofýzy. Poškozuje se tedy hypotalamo-hypofyzární osa. Nakonec se v důsledku poruchy řídicích orgánů metabolicko-endokrinní cestou naruší činnost žláz s vnitřní sekrecí. Změněna je i funkce mozkového kmene, což souvisí s poruchou srdce, ledvin a cév (13).

Dochází k strukturálním poruchám arteriol v ledvinách, které jsou příčinou vzniku chronické hypertenze. Hyperreaktivita typická pro časnou fázi hypertenze mizí.

Autonomní nervový systém (ANS) ovlivňuje činnost hypotalamo-hypofyzární osy, RAAS, metabolismus leptinu a hlavně inzulinu. Proto je-li v nepořádku ANS, projeví se tato skutečnost nejen kolísáním krevního tlaku, ale též neurohumorální i metabolickou dysfunkcí (12).

Tab. 3 Účinky sympatického nervového systému a AH (12)

Typy účinků	Konkrétní účinky
cirkulační	- zvýšení frekvence srdeční a kontraktility -> -> zvýšení minutového srdečního výdeje - zvýšení renální a periferní vazokonstrikce
renální	- zvýšení hladiny angiotenzinu II. - zvýšení vstřebávání sodíku
lokální	- zvýšení produkce KA a angiotenzinu II. ve tkáních
metabolicko-endokrinní	- zvýšení sekrece leptinu, ACTH, TSH, - zvýšení sekrece KA v nadledvinách - porucha uvolňování hormonů řídících sexuální funkce

ACTH - adrenokortikotropní hormon (kortikotropin), TSH - tyreotropní hormon, KA- katecholaminy

2.4.5 Úloha vazoaktivních působků

Vazoaktivní působky jsou lokalizovány jak přímo ve tkáních, kde vznikají, tak v plazmě, kde cirkulují. Proto se nazývají tkáňové a systémové působky. Tyto působky regulují periferní cévní rezistenci ovlivňováním cévní kontraktility. Mohou způsobovat remodelaci hladkých svalů cév, především způsobují hypertrofii. Mají vliv na subendoteliální migraci leukocytů a řídí adhezivitu a agregabilitu trombocytů. Proto nerovnováha mezi těmito působky u hypertoniků souvisí s rozvojem ICHS a aterosklerózy (13).

Konečný efekt vaskulárních působků závisí na poměru mezi vazodilatačními a vazokonstrikčními působky (12).

Při hypertenzi registrujeme poměr stěny cévní a šíři lumen, tloušťku intimy a média, funkci hladkého svalstva a endotel. Tyto parametry hrají v počáteční i pokročilé fázi hypertenze důležitou roli. K posouzení endoteliální dysfunkce sledujeme určité markery. Mezi

markery evidované již v počátcích endoteliální dysfunkce patří von Willebrandův faktor, endotelin-1 (ET-1) a mezibuněčná adhezní molekula-1 (ICAM-1) (13).

Tab. 4 Presorické a depresorické působky (1)

Depresorické působky	Natriuretické peptidy Systém kalikrein-kinin Vazodilatační prostaglandiny Endoteliální relaxační faktor (EDRF), NO Dopamin
Presorické působky	RAAS Katecholaminy Vazopresin Endotelin Tromboxan A a vazokonstrikční prostaglandiny Inzulin, Neuropeptid Y, Kortizol

NO – oxid dusnatý

2.5 Sekundární hypertenze

Na rozdíl od esenciální hypertenze, u sekundární hypertenze lze určit konkrétní vyvolávající příčinu. Zaujímá přibližně 5-10 % případů hypertenze. Odstraněním příčiny onemocnění se často odstraní i doprovodná hypertenze (39). Závažnost výšky tlaku krve však bývá střední až těžká (18, 29).

Nejčastěji se setkáváme s renálními, endokrinními a dalšími příčinami, včetně hypertenze v těhotenství (29).

Tab. 5 Příčiny sekundární hypertenze (18)

I. Renální onemocnění
A. Parenchymatózní
<ul style="list-style-type: none">- glomerulonefritidy, intersticiální nefritidy- polycystóza- hydronefróza a obstrukční uropatie- diabetická nefropatie- hypertenze po transplantaci ledvin- renální tumory
B. Renovaskulární
<ul style="list-style-type: none">- aneurysma, vaskulitidy, stenózy renálních tepen, okluze, trombózy, sekundární ischemie ledvin
II. Endokrinní
<ul style="list-style-type: none">- bude zmíněno níže
III. Hypertenze vyvolaná léky
IV. Hypertenze v těhotenství
V. Hypertenze u syndromu spánkové apnoe
VI. Hypertenze po transplantaci ledvin, srdce (jater, kostní dřeně)
VII. Neurogenní příčiny
VIII. Koartace aorty
IX. Hypertenze u kardiochirurgických výkonů

2.5.1 Renální hypertenze

Prevalence ledvinové hypertenze čítá 5-6 % případů, proto jsou získaná i vrozená onemocnění ledvin nejčastější příčinou sekundární hypertenze (40, 41). Nejčastěji se jedná o renoparenchymatózní hypertenzi s poškozenou tkání ledvin. Z 1-2 % pak jde o poruchy ledvinového tepenného řečiště, tedy o renální vaskulární hypertenzi (29).

Renoparenchymatické postižení může být jak unilaterální, tak bilaterální. Zahrnuje heterogenní skupinu chorob. TK může dosahovat patologických hodnot u akutních forem, ale častěji je zvýšený u chronických případů onemocnění. U chronické intersticiální nefritidy je tlak krve zvýšen u 35 %, u polycystického onemocnění ledvin je tomu tak u 60 %. Diabetická neuropatie je pak nejčastějším parenchymatózním hypertenzním onemocněním (39).

Fibromuskulární dysplázie (u žen mladšího a středního věku) a aterosklerotické postižení (u osob vyššího věku) jsou nejčastější příčiny renovaskulární hypertenze. Okrajově pak můžeme zmínit embolii či aneurysma. Hypertenze pak vzniká na základě ischemie obou či pouze jedné z ledvin. Důsledkem je vyšší produkce reninu a angiotenzinu II (9, 39).

Vzhledem k závažnějšímu průběhu sekundárních hypertenzí se ve srovnání s esenciální hypertenzí setkáváme u renálních hypertenzí s těžším orgánovým poškozením. Renální hypertenze může vyústit v maligní fázi hypertenze (42, 43).

2.5.2 Endokrinní hypertenze

Některé endokrinní žlázy, jsou-li postiženy hyperfunkčním onemocněním, produkují nežádoucí množství vazopresorických působků (29). Nejčastějším typem endokrinní hypertenze je primární hyperaldosteronismus s idiopatickým bilaterálním hyperaldosteronismem (50-60 %) a s jednostranným aldosteron produkujícím adenomem (tzv. Connův syndrom) (35-40 %). Hypertenze z nadprodukce hormonů štítné žlázy nevzniká často (44).

Tab. 6 Přehled endokrinních onemocnění a procentuální odhad výskytu doprovodné hypertenze (18, 29)

↑ exkrece mineralokortikoidů (primární hyperaldosteronismus, nadprodukce deoxykortikosteronu, ...)	100%
↑ exkrece kortizolu (Cushingův syndrom)	75%
↑ exkrece katecholaminů (Feochromocytom)	90%
↑ exkrece parathormonu (Primární hyperparathyreóza)	35%
↑ exkrece růstového hormonu (Akromegalie)	40%
↑ exkrece hormonů štítné žlázy (hyperthyreóza, hypothyreóza)	?
Familiární syndromy spojené s retencí sodíku (Na^+) a hypertenzí: Pseudohyperaldosteronizmus (Liddleův syndrom), Gordonův syndrom	?

2.5.3 Iatrogenní hypertenze

Řada léků má vazopresorické účinky. Jejich trvalé podávání může vést ke vzniku hypertenze. Toto podávání by proto mělo být kontrolováno při lékařských prohlídkách a dávkování by mělo být navrhováno opatrně, aby nedošlo k trvalému vzniku hypertenze (44).

Tab. 7 Léky a látky zvyšující krevní tlak (18, 28)

- sympatomimetika	- kontraceptiva	- ergotamin
- glukokortikoidy	- alkohol	- ADR
- mineralokortikoidy	- interakce s IMAO	- NaCl
- cyklosporin	- TCA	- Pb, Hg, Th
- takrolimus	- erytropoetin	

ADR – agonisté dopaminových receptorů, Hg – rtuť, IMAO – inhibitory monoaminoxidázy, NaCl – chlorid sodný, Pb – olovo, TCA – tricyklická antidepresiva, Th – thorium

2.5.4 Hypertenze v těhotenství

Hypertenze v těhotenství zvyšuje riziko závažných komplikací. Proto patří k hlavním příčinám fetální, novorozenecké i mateřské morbidity i mortality v civilizovaných zemích.

Tlak krve obvykle v první polovině těhotenství klesá (44). Zvláště patrný je pokles periferní rezistence v důsledku zvýšené syntézy NO a vazodilatačních prostaglandinů (18). Od 6.-10. týdne stoupá minutový srdeční objem, plazmatický volum a srdeční frekvence. Pokleslý krevní tlak od druhé poloviny těhotenství stoupá, okolo porodu odpovídá hodnotám před otěhotněním (29).

Na vzniku hypertenze v těhotenství se podílejí hormonální vlivy, poškozený endotel s endoteliální dysfunkcí a s nadprodukcí presorických látek (18).

Hypertenze v těhotenství je definována porovnáním zvýšených hodnot TK v průběhu druhého trimestru k hodnotám před otěhotněním či v prvním trimestru. AH je v tomto případě definována při vzestupu diastolického tlaku krve o > 15 mm Hg a systolického tlaku o > 25 mm Hg proti hodnotám výše uvedeným. Druhým způsobem jak stanovit hypertenzi je z absolutních hodnot podle klasické definice AH (29).

2.5.5 Hypertenze u koartace aorty

Koartace aorty čítá 7 % vrozených srdečních vad. Koartací aorty chápeme vrozené zúžení aortálního lumina za odstupem levé podklíčkové tepny (18).

2.5.6 Neurogenní příčiny hypertenze

Neurogenní hypertenze vzniká v důsledku nárůstu nitrolebního tlaku (nádory, hematomy, záněty) či z hypoperfúzí, které opakovaně proběhly. Jedná se o vzácný případ sekundární hypertenze (44).

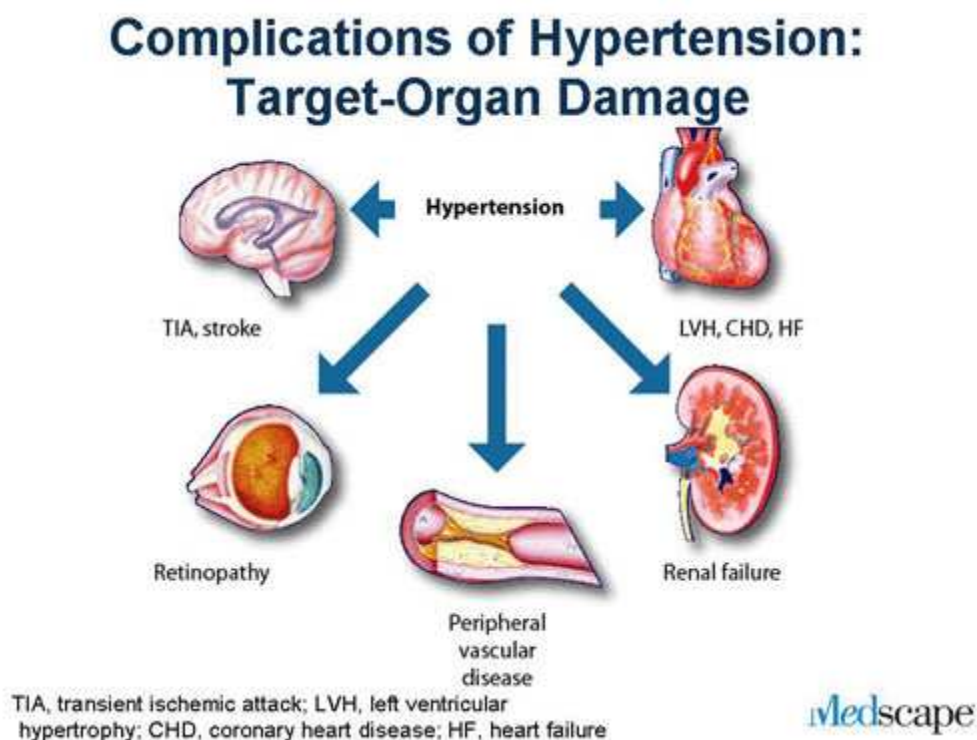
2.5.7 Hypertenze u syndromu spánkové apnoe (SSA)

Poruchy jako hypopnoe až apnoe jsou velice časté především u osob s obezitou centrálního typu. SSA je diagnostikován, pokud je apnoe či hypopnoe zaznamenaná alespoň pětkrát a trvá více než 10 sekund za 1 hodinu (45). Hypertenze pak vzniká v důsledku opakované aktivace vazomotorických center z hypoxie a nárůstem aktivity sympatického nervového systému (46).

2.6 Komplikace z AH

Starší, dnes již méně používanou klasifikací, je rozdělení arteriální hypertenze podle vývojových stádií poškození. Existují celkem čtyři stupně stádií. Stadium I. se obchází bez orgánových změn. Zaznamenává prosté zvýšení tlaku. Stadium II. je pak fází onemocnění, kdy jsou již zaznamenána orgánová poškození bez klinických projevů. Příkladem může být mikroalbuminurie, proteinurie, hypertrofie levé komory, kalcifikace aorty a aterosklerotické změny karotických cév. Stadium III. se již projevuje klinicky selháním funkce orgánů a poruchou postižených orgánů. Maligní hypertenze pak zastupuje stadium IV., kdy vlivem náhlého vzestupu tlaku krve dochází k rychle se rozvíjejícímu levostrannému srdečnímu selhání, renálnímu selhání, a celkově k histologické fibrinoidní nekróze arteriol a malých artérií (8).

Obrázek 4: Cílové orgány poškozené hypertenzí (47)



<http://img.medscape.com/slide/migrated/editorial/cmeline/2008/14909/images/slide35.jpg> (22. 12. 2012)

2.6.1 AH a tepenný systém.

Poškození tepen u arteriální hypertenze není příliš specifické. Jedná se o urychlené stárnutí tepen v důsledku tlakové nálože (48).

Změny rezistenčního řečiště. V rezistenčním řečišti dochází působením tlaku krve k hypertrofii buněk hladké svaloviny. Hypertrofie ve stěně arteriol pak vede ke zmenšení lumina cév. Zesílená stěna je následně citlivější k vazoaktivním substancím. Arterioly a kapiláry vlivem zvýšeného tlaku krve řídnou, dochází k tzv. rarefakci.

Změny velkých tepen. Velké tepny mění svou strukturu nejen v závislosti na tlaku krve, ale dále na základě přívodu solí, genetické predispozice a procesu stárnutí. Při trvalé hypertenzi se stoupajícím věkem začínají být elastinová rovnoběžně uspořádaná vlákna dezorganizovaná. Byla zjištěna fragmentace, stoupá obsah kolagenního materiálu, jsou zaznamenána depozita vápníku. Důležité je uvědomit si rozdíl mezi aterosklerotickým a hypertenzním poškozením velkých tepen (18, 49).

Tab. 8 Rozdíl mezi aterosklerotickým a hypertenzním poškozením velkých tepen (18, 50, 51)

	ATS	AH
Lokalizace v tepenném řečišti	nerovnoměrná, úsek cévy	difúzní změny, hl. centrální tepny
Lokalizace v cévních vrstvách	intima	médie
Důsledky procesu na cévní stěnu	zúžení lumen	dilatace velkých cév až protažení, rigidita
Geografický výskyt	v závislosti na prostředí	všude

2.6.2 AH a srdce

Hypertrofie levé srdeční komory. Jedním z důsledků AH bývá hypertrofie srdeční komory. K přeměně srdeční stěny stačí několik měsíců. Z presorických působků mají význam především RAAS v čele s angiotenzinem II. a aldosteronem. Kromě krátkodobého vazokonstrikčního účinku angiotenzin II. způsobuje hypertrofii myocytů. S aldosteronem se podílejí na hypertrofii vaziva. Inhibicí aktivity kolagenáz dochází k hromadění kolagenu v intersticiu myokardu a k progresivní myofibróze (52). Na proliferaci fibroblastů se podílí též endotelin-1 (53).

Hyperfunkce SANS nevede jednoznačně k hypertrofii levé komory srdeční (54). Přitom bylo zjištěno, že β -blokátory jsou schopny zvrátit remodelaci a zmenšit hmotnost srdce (55). Inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu (ACEI) dokonce navíc vedou k regresi myokardiální fibrózy a ke zlepšení diastolické funkce komory, což je hlavní důsledek hypertrofie levé srdeční komory (56).

K dalším faktorům vedoucím k hypertrofii levé komory srdeční je nadměrný přívod solí (57), inzulinová rezistence (58) či alkohol (59). Významný je též genetický vliv a pohlaví.

Srdeční selhání. U hypertenze vzniká srdeční selhání s diastolickou či systolickou dysfunkcí nebo s oběmi dysfunkcemi dohromady. V prvním případě je diastolická dysfunkce důsledkem hypertrofie levé srdeční komory (60). Výsledkem je porucha plnění komor vzhledem k opožděné relaxaci (18). Systolická dysfunkce může být přítomná.

Samotná systolická dysfunkce pak může vznikat při následné ICHS. Často k systolickému selhávání dochází po infarktu myokardu (60). K posuzování systolické dysfunkce je zjišťována ejekční frakce. Je-li její hodnota rovna či nižší jak 40 %, jedná se o systolickou dysfunkci (18).

V selhávajícím myokardu dochází apoptózou k úbytku kardiomyocytů, což je u hypertonického srdce hlavní rozhodující faktor srdečního selhání (61).

Ischemická choroba srdeční (ICHS). Bylo zjištěno, že zvýšením tlaku krve o 20 mm Hg systolického a 10 mm Hg diastolického tlaku ve skupině 40-69 let se úmrtnost na ICHS a další vaskulární choroby zdvojnásobila (62).

Systolický krevní tlak je oproti diastolickému považován dle studií za lepší ukazatel koronárního a kardiovaskulárního rizika (63).

Arytmie. Diastolická dysfunkce může vést k fibrilaci síní (64). Komorové arytmie pak vznikají jak následkem hypertrofie srdeční, tak množením pojivové tkáně (65, 66).

2.6.3 AH a metabolismus

Metabolický syndrom. Metabolický syndrom (MS) je podle IDF (International Diabetes Federation, Mezinárodní federace pro diabetes) definován přítomností abdominální obezity a dále přítomností nejméně dvou ze čtyř rizikových faktorů. Mezi tyto faktory patří kromě snížené hodnoty lipoproteinů o vysoké hustotě (HDL-cholesterolu), zvýšené hodnoty triglyceridů (TG) a zvýšené hodnoty glykémie nalačno (či dříve diagnostikovaný diabetes mellitus (DM) 2. typu) právě zvýšený krevní tlak od 130/85 mm Hg a výše (7).

Přítomnost AH u MS zvyšovala dle studií riziko kardiovaskulárních a cerebrovaskulárních příhod dvojnásobně (67). Podle jiných zvyšovala AH kardiovaskulární (KV) riziko nejvýrazněji u osob s MS, kteří zároveň trpěli hyperlipidemií (68). U hypertoniků s MS byla sledována zvýšená hypertrofie levé srdeční komory, nižší poddajnost aorty s ATS lézemi, mikroalbuminurie a retinopatie (18).

Diabetes mellitus. DM je závažným rizikovým faktorem ATS. U diabetiků je KV mortalitní riziko 2-4krát vyšší a riziko CMP 3krát vyšší. Nemocní s DM mají stejné riziko aterosklerotických koronárních komplikací jako nemocní po infarktu myokardu (6). Až šestkrát je pak

zvýšeno KV riziko u kombinace s AH a 35krát pak, je-li přítomna i proteinurie (69). Přítomnost hypertenze se u DM zvyšuje dvakrát (70).

DM zvyšuje riziko KV chorob tím, že s tímto onemocněním jde ruku v ruce více rizikových faktorů, metabolických poruch a rychlá aterosogeneze ve spojitosti s AH. Zvláště časté jsou komplikace v případě DM II. typu makroangiopatie, což je poškození velkých cév. Makroangiopatie urychluje rozvoj ICHS, ICHDK a CMP (29).

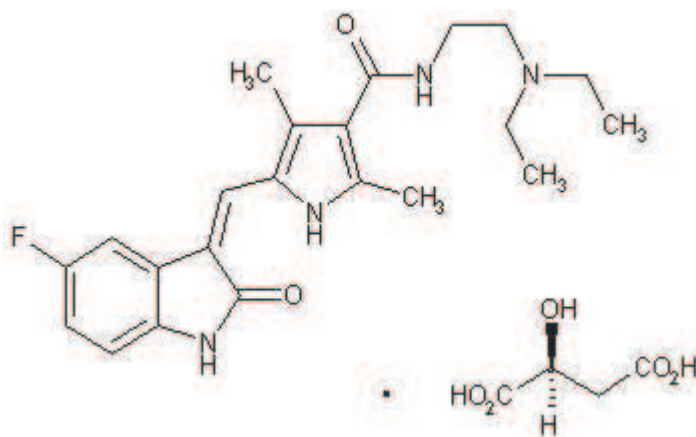
2.6.4 Hypertenzní krize

Hypertenzní krize je stav ohrožující život, u něhož dochází v důsledku akutního zvýšení krevního tlaku nad 210/120 mm Hg ke kardiovaskulárním, renálním a neurologickým poruchám s příznaky. Hypertenzní krizi dělíme na náhlou (urgentní) a supernáhlou (emergentní) krizi. Maligní hypertenzi pak myslíme stav, kdy dochází k rychlé progresi orgánového poškození z důvodů dlouhodobého zvýšení tlaku nad hodnoty 210/120 mm Hg (29).

3 SUNITINIB

Sunitinib řadíme dle farmakologie mezi antineoplastika – inhibitory proteinkináz. Dle anatomicko-terapeuticko-chemické (ATC) klasifikace léčiv je kód pro sunitinib L01XE04. Jedná se o karboxamid, konkrétně o N-[2-(diethylamino)ethyl]-5-[(Z)-(5-fluoro-1,2-dihydro-2-oxo-3H-indol-3-ylidin)methyl]-2,4-dimethyl-1H-pyrrol-3-karboxamid. Léčebně se používá ve formě malátové soli (71).

Obrázek 5: Vzorec sunitinibu (72)

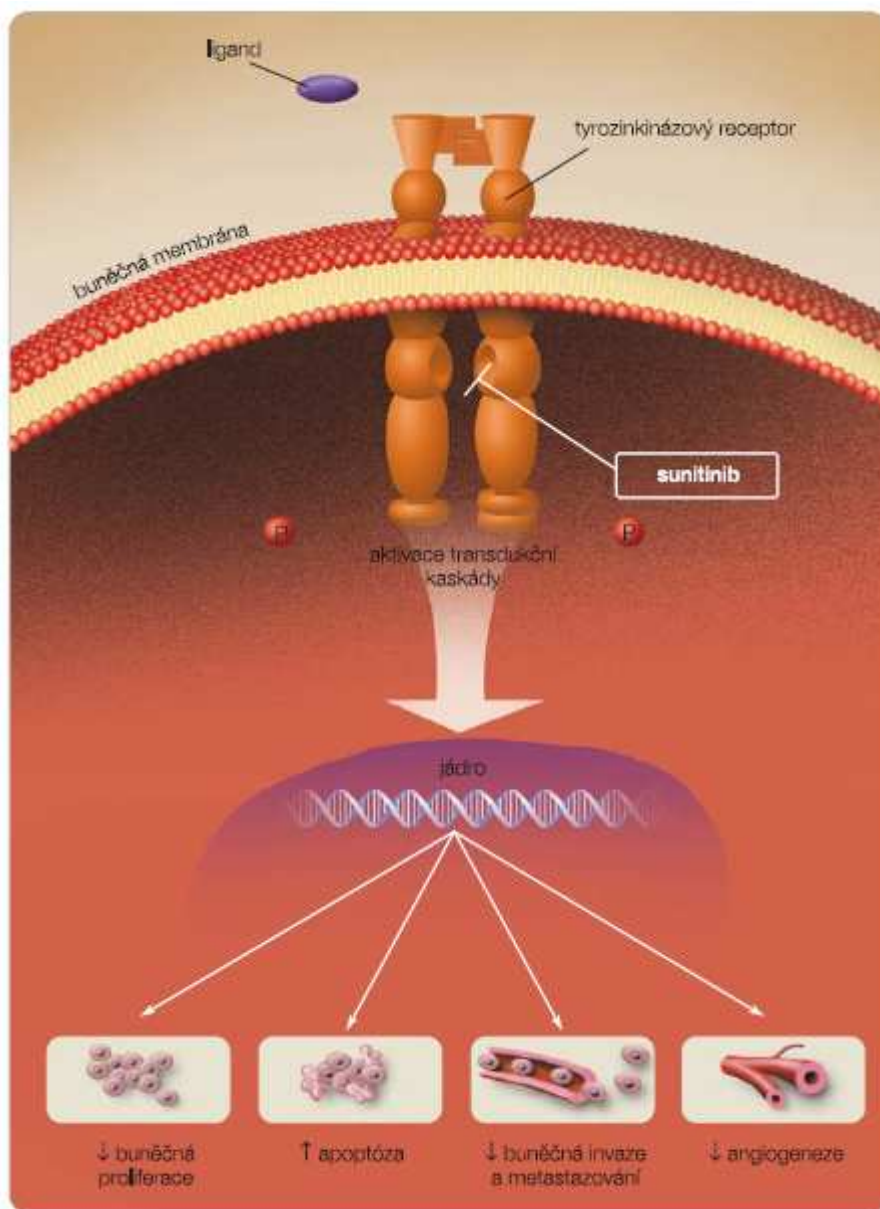


<http://cdn.medicosconsultants.com/images/monograph/43a4d7f8-48ae-4a63-9108-2fa8e3ea9d9c/sutent-01.jpg> (29. 9. 2012)

Sunitinib konkrétně působí jako inhibitor tyrozinkinázových receptorů (RKTs). RKTs patří k molekulám, které spolupracují na patologické angiogenezi, růstu tumoru a progresi karcinomu s metastázami (73, 74). Tyrozinkinázy zprostředkovávají fosforylaci, tedy vazbu fosfátových skupin na tyrozin. Jedná se o enzymy. Fosforylace vede k důležitým buněčným pochodům. Odstartuje kaskádu signálů například vzájemnou vazbou růstových faktorů. Umožňuje tak kontakt extracelulárního prostředí směrem k jádru. Potřebný fosfát dodává adenosintrifosfát (ATP). Signál však může být přerušen

navázáním příslušného inhibitoru. Inhibitory tyrozinkináz potlačují selektivně pouze specifické buňky nádorových buněk (71).

Obrázek 6: Mechanismus účinku a výsledky působení sunitinibu (75)



Obr. 2 Zjednodušené schéma mechanismu účinku sunitinibu.

Sunitinib působí jako inhibitor tyrozinkináz řady receptorů. Vazbou na místo pro adenosintrifosfát brání sunitinib fosforylaci proteinů a přenosu signálu. To vede k potlačení neoangiogeneze, tj. sníží se krevní zásobení nádorových buněk, rovněž dochází k snížení schopnosti jejich růstu a proliferace a zároveň ke zvýšení apoptózy.

<http://www.remedia.cz/Images/Articles/Main/vtextu20081016022255.jpg>

(28. 9. 2012)

Sunitinib tedy jakožto inhibitor tyrozinkináz znemožňuje růst a proliferaci nádorových buněk, potlačuje krevní zásobení nádorových buněk pozastavením neoangiogeneze. Jeho působením též dochází až k apoptóze buněk (71, 76).

Sunitinib je v játrech metabolizován na stejně účinný primární metabolit SU012662. Ten je často přímo využíván při zkoumání účinků sunitinibu na zvířatech (74, 77). Metabolizace sunitinibu probíhá v játrech pomocí enzymu CYP3A4, což je jeden z typů cytochromu P450. Sunitinib by neměl být inhibitorem ani induktorem enzymů cytochromů P450 (71).

Sunitinib inhibuje tyrozinkinázové receptory pro růstové faktory destiček (PDGFR-a a PDGFR-b), Fms podobné tyrozinkinázy 3 (Fms-like tyrosine kinase-3, Flt3) a receptor faktoru nádorových kmenových buněk (Kit) (73, 78). Dále stejným mechanismem inhibuje receptor pro vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGFR-1, VEGFR-2 a VEGFR-3) (79). Je inhibitorem receptoru pro neurotrofický faktor odvozený od gliálních buněk (glial cell-line derived neurotrophic factor receptor, RET) a receptor kolonie stimulujícího faktoru (CSF-1R) (74).

Sunitinib-malát je dnes užíván zejména pro léčbu dvou základních typů karcinomu. Těmi jsou metastatický adenokarcinom ledviny zvláště pokročilého stavu. Zde bylo zjištěno, že sunitinib je účinnější než dosud užívaný cytokin interferon- α . Druhým je pak gastrointestinální stomální tumor a to jak benigního tak maligního typu. V tomto případě je volen po selhání svého předchůdce imatinibu, na něhož často vzniká rezistence či přecitlivělost (74, 80).

Probíhají klinické studie za účelem léčby dalších typů nádorů sunitinibem. Jmenujme například rakovinu jazyka, metastazující rakovinu prsu či rakovinu střeva (81).

Sunitinib má jako každý lék, zvláště lék řadící se mezi antineoplastika, řadu nežádoucích účinků. Mezi typické nežádoucí účinky patří gastrointestinální poruchy, poruchy krevního obrazu, embolie či hepatotoxicita. Mezi další zjištěné nežádoucí účinky řadíme arteriální hypertenzi (82).

Arteriální hypertenze. Hypertenze byla detekována u 16 % pacientů léčených sunitinibem, z toho 4,7 % pacientů mělo hodnoty tlaku krve u systolického > 200 mm Hg či u diastolického tlaku > 110 mm HG (74). Obvykle se objeví po 3-4 týdnech léčby sunitinibem (83). Tento nežádoucí účinek však bývá řešen léčbou obvyklými antihypertenzivy. Hypertenze nebývá důvodem k vysazení sunitinibu (84). Pouze neodpovídá-li pacient na farmakologickou léčbu a hodnoty výše jeho tlaku krve jsou závažné, léčba bývá přerušena a je nutné čekat na snížení krevního tlaku (74).

Hypertenze by se měla monitorovat. Dekompenzovaný krevní tlak by mohl zvýšit a podpořit závažnost kardiotoxicity a vaskulárních nežádoucích účinků sunitinibu (85). To může vést k infarktu myokardu, ischemii či trombóze (86).

Patogeneze hypertenze z vyšší hladiny ET-1 a souvislost s podáváním sunitinibu bude vysvětlena níže. ET-1 je významný vazokonstrikční působek se schopností zvyšovat krevní tlak (87).

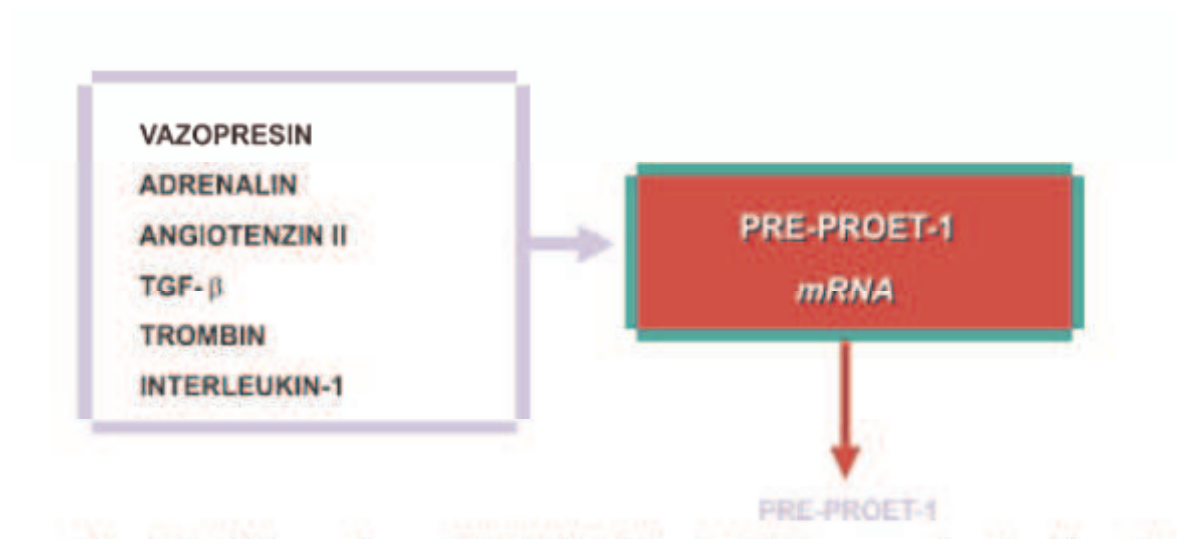
4 ENDOTELIN

Endoteliny (ET) zahrnují tři izoformy. Endotelin 1, 2 a 3. Jak již název napovídá, ET jsou produkovány endotelovými buňkami. Jedná se o silné vazokonstrikční látky. Nejznámějším a nejsilnějším z těchto tří peptidových izoform je endotelin-1 (ET-1). Existují dva subtypy endotelinových receptorů (88). Na ETA receptor se může vázat pouze ET-1. Touto vazbou je vyvolána vazokonstrikce a další hypertenzní účinky. Všechny tři izoformy se pak mohou vázat na ETB receptor, který potlačuje reabsorpci sodíku v ledvinách a má vazodilatační účinky (12, 88). ETA receptory jsou distribuovány na povrchu hladkého svalstva média cév, především v srdci a cévách mozku. ETB receptory se vyskytují na povrchu endotelu cév, zvláště v ledvinách, CNS a v děloze.

V endotelové buňce dochází působením řady komponent ke zvýšené expresi mediátorové ribonukleotidové kyseliny (mRNA). Vzniká pre-proendotelin-1 (PRE-PROET-1), z něhož působením proteolytických enzymů vzniká proendotelin-1. ET-1 pak vzniká působením endotelinkonvertujícího enzymu (ECE) (89). K aktivaci mRNA dochází působením angiotenzinu II, adrenalinu, vazopresinu, cytokinů, vlivem zánětu, koagulačních faktorů, ischemie či rozpětím cévní stěny (88, 89).

Po intravenózním podání ET-1 dochází nejprve k poklesu tlaku krve. Pokles je krátkodobý a je vystřídán asi hodinovým vzestupem krevního tlaku (26). Tomuto jevu říkáme dvoufázový průběh konstrikce. K počátečnímu poklesu TK vede aktivace ETB receptoru s následnou zvýšenou expresí NO a prostacyklinu (PGI₂). Tímto je udržována i určitá rovnováha vazokonstrikčního a vazodilatačního účinku. K rovnováze přispívá též endotelin inhibující faktor, jenž snižuje expresi ET. Endotelin inhibující faktor je pravděpodobně produkován buňkami hladkého svalstva (89). K vazokonstrikčnímu účinku, jak již bylo zmíněno, vede vazba ET-1 na ETA receptor. Vazbou na ETA receptor aktivuje ET-1 fosfolipázu C. Následkem aktivace fosfolipázy C stoupá

Obrázek 7: Faktory vyvolávající tvorbu pre-proendotelin (PRE-PROET-1), z něhož vznikne endotelin-1 (89)



koncentrace vápníkových iontů uvnitř buňky. Vápníkové ionty pak zvyšují činnost myozinkinázy s kontrakcí buněk hladké svaloviny (89). ET-1 a ETA receptor tvoří velmi pevný komplex receptor-ligand, který se velice pomalu disociuje, a proto je účinek dlouhodobý (88).

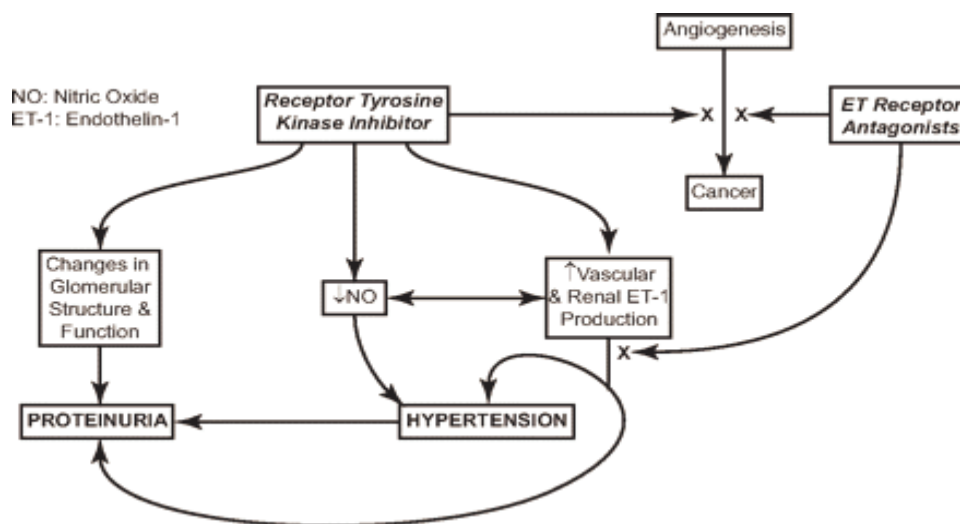
ET-1 zvýší krevní tlak také působením na srdce opět prostřednictvím ETA receptorů. Konkrétně vyvolává pozitivní inotropní a chronotropní účinky. Tímto je ET-1 schopen ovlivnit celkové hodnoty tlaku krve a nemá pouze místní vazokonstrikční účinky (26).

Endotelin-1 a sunitinib. Podávání sunitinibu je spojováno se zvýšenou koncentrací plazmatického ET-1. Například studie zkoumající koncentraci ET-1 u pacientek s preeklampií vyšla pozitivně ve znění tohoto tvrzení. Výzkum byl lokalizován v tepenném systému ledvin (90).

Proběhl též výzkum na lidech a krysách v pupečnickové žíle *in vitro* a *in vivo*. Zvýšená hladina ET-1 byla *in vivo* zaznamenána, ale nekorelovala se zvýšeným tlakem (91). Tento nesoulad si vysvětlují další badatelé podáváním antihypertenzní léčby části pacientů (92). Výsledek nepotvrdil zvýšenou expresi ET-1 v endotelu pupečnickové žíly *in vitro* a poukazoval na nutnost zaměřit se v dalším výzkumu na jiný cévní úsek. Autoři považovali původ zvýšeného ET-1 za neendoteliální (91). Podle jiných se však mohli autoři zmýlit tím, že nevyhodnotili produkci NO, o

níž se přitom v práci zmiňují. Činnost VEGF a ET-1 je provázaná a je-li aktivita NO-syntázy snižena, vzrůstá aktivita ET-1 (92, 93).

Obrázek 8: Účinky inhibitorů tyrozinkinázových receptorů (94)



Inhibitory tyrozinkinázových receptorů potlačují angiogenezi vedoucí k rozvoji rakoviny, poškozují ledviny a zvyšují hypertenzi sníženou tvorbou NO a zvýšenou produkcí vaskulárního a renálního ET-1.

<http://hyper.ahajournals.org/content/56/4/575/F1.medium.gif> (15. 12. 2012)

5 CÍL PRÁCE (ZADÁNÍ)

Cílem této rigorózní práce bylo za pomoci imunohistochemických a stereologických metod vyhodnotit expresi endotelinu v aortě. Pozorovanými zvířaty byli normotenzní WKY a hypertenzní SHR potkani. Zvířatům bylo podáváno léčivo sunitinib.

6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6.1 Zvířata a předepsaná dieta

K experimentu byl použit inbrední kmen spontánně hypertenzních potkanů (SHR) a inbrední kmen Wistar Kyoto normotenzních potkanů (WKY). Tyto dva kmeny byly každý dále rozdělen do dvou skupin, čímž vznikly čtyři skupiny. Polovinu tvořili SHR a polovinu WKY potkani. Celkem bylo pro pokus použito 24 potkanů, v každé skupině po 6 zvířatech.

Z každého kmene byl polovině zvířat podáván sunitinib v dávce 10mg/kg/den. Sunitinib byl rozpouštěn ve vodě. Zbytek zvířat sloužil jako kontrola. Tato zvířata dostávala vodu. Aplikační schéma u SHR potkanů bylo 8 týdnů/5 dnů pauza/8 týdnů. Testované i kontrolní skupině byla tedy dieta podávána 8 týdnů. U pacientů je doba podávání omezena na 4 týdny, doba podávání potkanům byla tedy dvakrát tak delší. Následovala 5-ti denní pauza a pokračovalo se opět 8 týdnů v podávání sunitinibu a vody. U normotenzních WKY potkanů následovalo po 8 týdnech podávání sunitinibu a vody a po 5 dnech pauzy pouze 2 týdenní pokračování v podávání sunitinibu z důvodů neúnosného úbytku hmotnosti a toxicity. Aplikační schéma WKY potkanů tedy bylo 8 týdnů/5 dnů/2 týdny.

Zvířata byla po poslední dávce po 24 hodinách usmrcena. Po usmrcení zvířat euthanasií byly zvířatům odebrány segmenty tkání. Pro náš experiment byly použity aorta. Tkáňové segmenty byly vloženy do OCT media (Leica, Praha, Česká Republika), zmrazeny v tekutém dusíku a poté uskladněny v -80 °C.

6.2 Imunohistochemie

K detekci exprese endotelinu-1 byla použita imunohistochemická metoda. Pomocí imunohistochemické metody můžeme vizuálně zjišťovat přítomnost či nepřítomnost hledaného antigenu ve tkáních. Konkrétní

antigen lze identifikovat pomocí imunologické reakce hledaného antigenu s protilátkou. Imunohistochemických metod existuje několik typů. V tomto případě jsme zvolili En Vision metodiku. Jedná se o nepřímou metodu, kdy se na hledaný antigen naváže primární protilátka. Na tuto pak se naváže ještě sekundární protilátka pro citlivější detekci. Až potud není reakce viditelná. K vizualizaci jsme použili chromogen diaminobenzidin (DAB). Ten se za přítomnosti H_2O_2 jako substrátu darováním elektronů přemění v alkoholu nerozpustný hnědý produkt.

6.2.1 Pracovní postup

Po nakrájení řezů na zmrazovacím mikrotonu byly řezy přeneseny na sklíčka. Následoval postup důležitý k fixaci a lepší adhezi řezů ke sklíčku. Řezy byly 30 minut ponechány na vzduchu k sušení a rozmražení. Na dalších 30 minut byly řezy se sklíčky po rozmražení vloženy do roztoku acetonu. Aceton byl uchováván v $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Sklíčka se vyndala a dala se opět nejméně 30 minut sušit.

Použití co nejmenšího množství reagensů jsme docílili pomocí pera PAP, jímž jsme kolem řezu vyznačili hydrofobní kruh. Poté jsme sklíčka na 5 minut vložili do roztoku PBS (Phosphate Buffered Saline – fosfátový pufr), ředěného 1:10.

Na tkáni řezu se nachází velké množství antigenů, které by vedly k nespecifickým imunitním reakcím. Tato místa lze zablokovat pomocí 30 minutové inkubace s 10 % roztokem goat séra (Sigma Aldrich, Praha, Česká Republika) v PBS. Toto sérum je neimunogenní. Důležitý je oplach v PBS mezi jednotlivými úkony.

Po zablokování všech nespecifických míst jsme nanесли primární králičí protilátku. Jako primární protilátka pro expresi endotelinu byla použita anti-endotelin (anti-rat) protilátka. Tu jsme zředili bovinním sérovým albuminem (BSA) v poměru 1:100 (Sigma Aldrich, Praha, Česká Republika). Po 60 minutách inkubace byla sklíčka po dobu 5 minut 2x vymyta v roztoku PBS.

Z důvodů přítomnosti endogenní peroxidázy ve tkáních potkanů bylo potřeba činnost peroxidázy zablokovat. K tomu stačilo dodat substrát. Jako substrát nám posloužil 3 % roztok H_2O_2 . Inkubace trvala 15 minut. Výsledkem tohoto bodu v postupu bylo zamezení falešně pozitivní reakce s barvivem DAB.

Teprve po těchto úkonech a po oplachu v PBS (2 x 5 minut) jsme napipetovali na tkáň sekundární goat protilátku anti rabbit En Vision. V poměru 50:1 byla tato protilátka smíchána s potkanním sérem (Sigma Aldrich, Praha, Česká Republika). Komplex jsme nechali na sklíčkách působit 30 minut a následovalo opět promytí sklíček v roztoku PBS (2 x 5 minut).

Nyní jsme již mohli provést vizualizaci pomocí barviva DAB (DAKO, Dánsko). Každá inkubace barvivem trvala 45 sekund. DAB nám pomohl vizualizovat pomocí hnědého obarvení protilátek expresi endotelinu na preparátech. Po oplachu v PBS jsme po dobu 5 sekund dobarvili jádra v barvivu hematoxylinu ukončené 1 minutovým modráním. Modráním probíhá pod tekoucí vodou z kohoutku.

Následně jsme postupovali s cílem vytvořit trvalé preparáty. K tomu je třeba obarvenou tkáň odvodnit. Postupuje se od hydrofilní sloučeniny (aceton) směrem k hydrofobní sloučenině (xylen) dle následujícího schématu: aceton → aceton-xylen (10:1) 3 minuty → aceton-xylen (1:10) 3 minuty → xylen (3 x 2 minuty). Podložní sklíčka byla nakonec montována s krycím sklíčkem pomocí eukitu

6.3 Stereologická analýza

Stereologické metody nám pomohly kvantifikovat plochu velikosti endoteliální exprese. Z referenčního objemu 50 řezů o tloušťce 7 μm bylo systematicky náhodně vybráno pět řezů pro každé barvení, neboť první řez byl vybrán náhodně a pak každý desátý. Ke stereologickému odhadu byla zvolena metoda bodové testovací mřížky. Pomocí této

metody jsme museli na jedné cévě napočítat více jak 100 průsečíků mezi pozitivitou endotelinu barvení na cévním endotelu a body sítě.

Vzorec sloužící k výpočtu odhadované plochy barvení je:

$$estA = a * P,$$

kde parametr a definuje plocha příslušející jednomu testovacímu bodu a parametr P je počet průsečíků mezi pozitivitou barvení a body testovací sítě.

Stereologická analýza byla stanovena pomocí softwaru PointGrid ELLIPSE (ViDiTo, Kosice, Slovakia). Digitální kamera Pixelink PL-A642 (Vitana Corp. Ottawa, Canada) a softwar pro obrazovou analýzu NIS (Laboratory Imaging, Czech Republic) provedli fotodokumentaci a digitalizaci snímků. K vizualizaci preparátů byl použit mikroskop Olympus AX 70.

6.4 Statistická analýza

Hodnoty v grafech jsou formulovány jako průměry hodnot středních chyb průměrů (\pm SEM). V každé skupině je 6 zvířat. K porovnání rozdílů mezi kontrolní skupinou a skupinou, které byl sunitinib podáván, byl použit nepárový T test. Za statisticky významný rozdíl zjištěný pomocí softwaru GraphPad Prism 5.0 považujeme, je-li hladina významnosti $p \leq 0,05$.

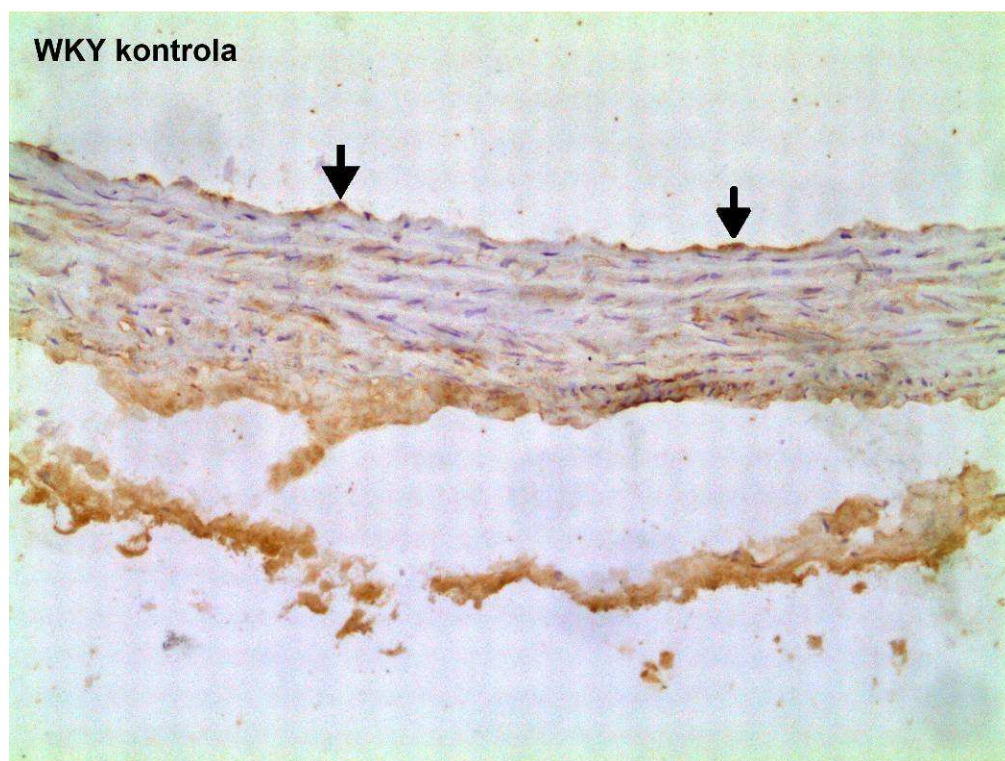
7 VÝSLEDKY

7.1 Imunohistochemické barvení endotelinu v aortě

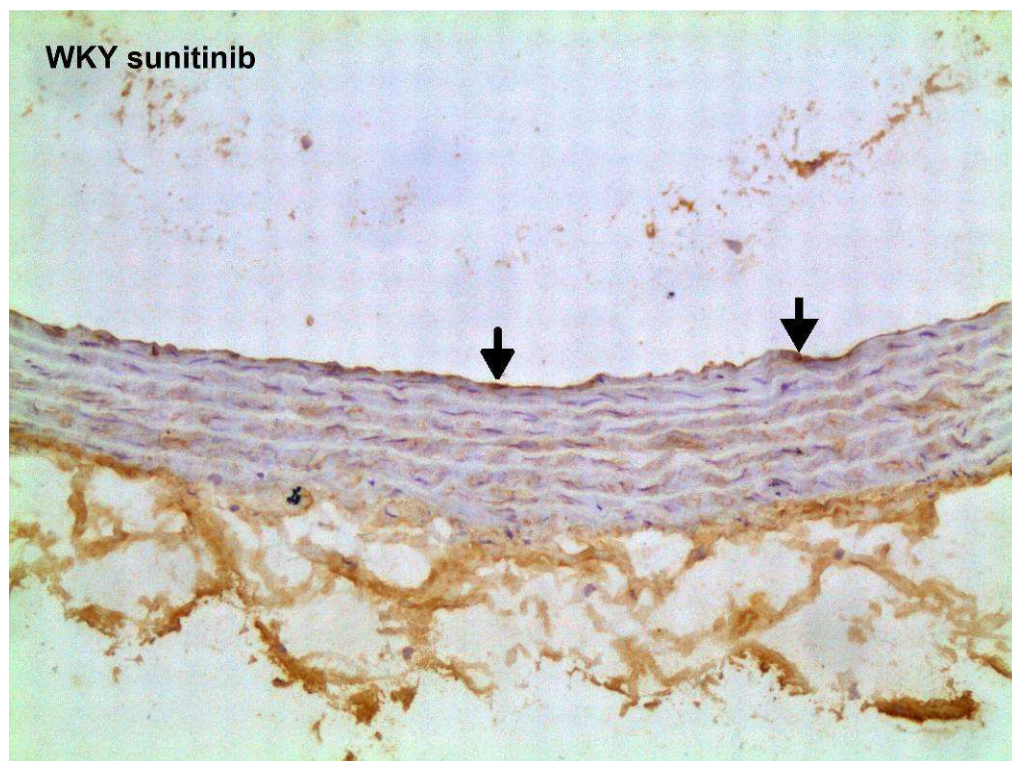
Pro hodnocení exprese endotelinu-1 bylo zvoleno 120 preparátů, které obsahovaly 5 preparátů systematicky náhodně zvolených řezů od 6 potkanů z jednotlivých skupin. Exprese endotelinu-1 byla pozorována zejména na cévním endotelu a částečně někde také v cévní medii a to částečně u všech hodnocených cév.

Exprese endotelinu byla velmi podobná u normotenzních potkanů a to jak u kontrolní skupiny, tak u skupiny léčené sunitinibem (obr 9, 10). Na druhou stranu byla exprese endotelinu značně výraznější u SHR potkanů, kterým byl podáván sunitinib ve srovnání s kontrolními SHR potkany (obr 11, 12). Po takto vyhodnoceném barvení jsme přistoupili ke stereologické analýze.

Obrázek 9: *Representativní obrázek exprese endotelinu u kontrolní skupiny WKY potkanů v aortě*

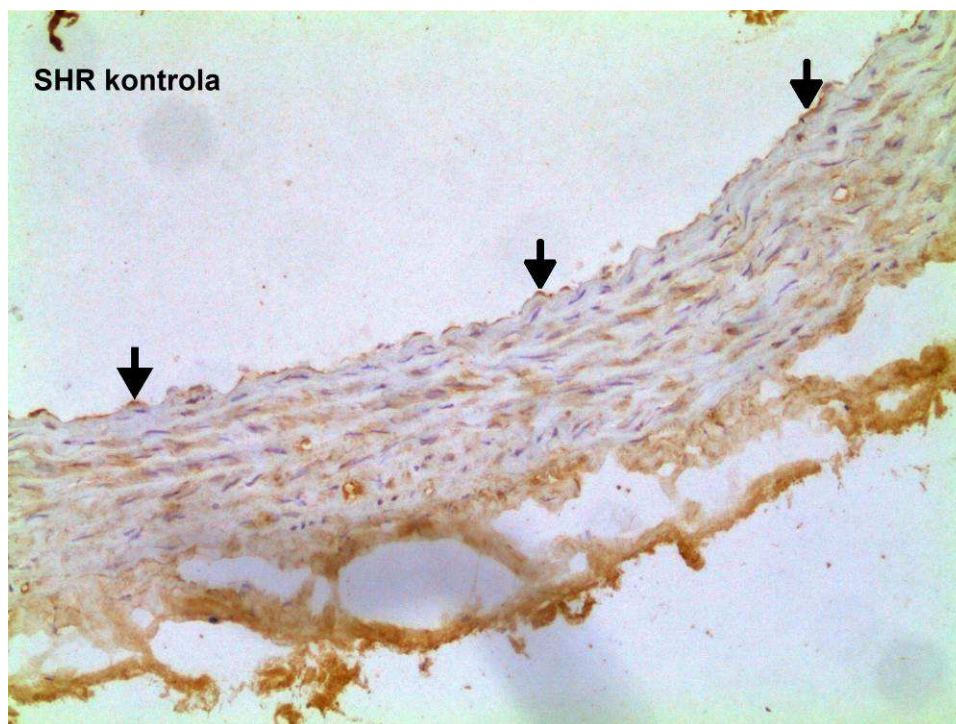


Obrázek 10: Reprezentativní obrázek exprese endotelinu u skupiny WKY potkanů v aortě, kterým byl podáván sunitinib

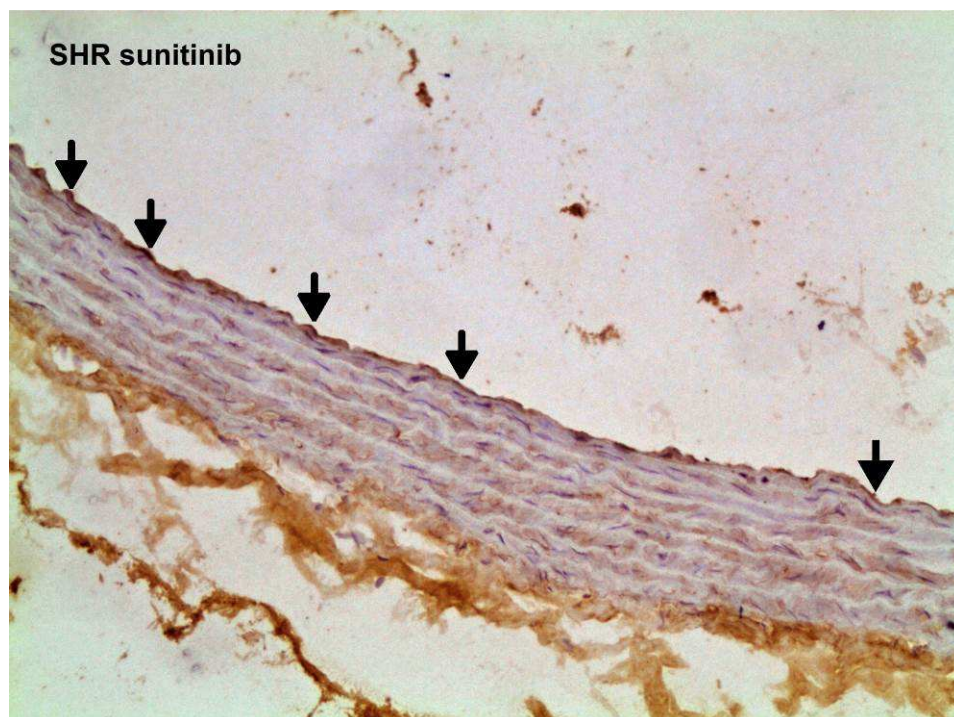


Expres byla detekována zejména u endoteliálních buněk (šipky). Obecně lze konstatovat, že exprese endotelinu se nijak výrazně nelišila mezi kontrolními a sunitinib potkany. Jádra jsou dobarvena hematoxylinem. Zvětšení 20x.

Obrázek 11: Reprezentativní obrázek exprese endotelinu u kontrolních SHR potkanů v aortě



Obrázek 12: Reprezentativní obrázek exprese endotelinu v aortě u SHR potkanů, kterým byl podáván sunitinib



Expres byla detekována zejména u endoteliálních buněk (šipky). Ze sledovaných obrázků byla patrná vyšší intenzita barvení (expres) u cév u potkanů, kterým byl dáván sunitinib (více šipek). Zvětšení 20x.

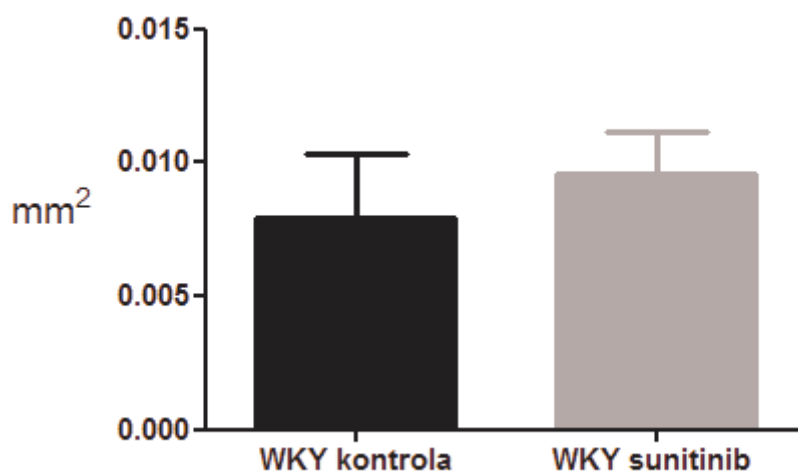
7.2 Stereologická analýza exprese endotelinu v aortě

Stereologická analýza byla použita pro kvantifikaci velikosti plochy endoteliální exprese endotelinu. Stereologická analýza byla provedena celkem u 120 řezů. 30 řezů bylo hodnoceno v každé skupině. Expres sunitinibu se lišila zejména u SHR potkanů.

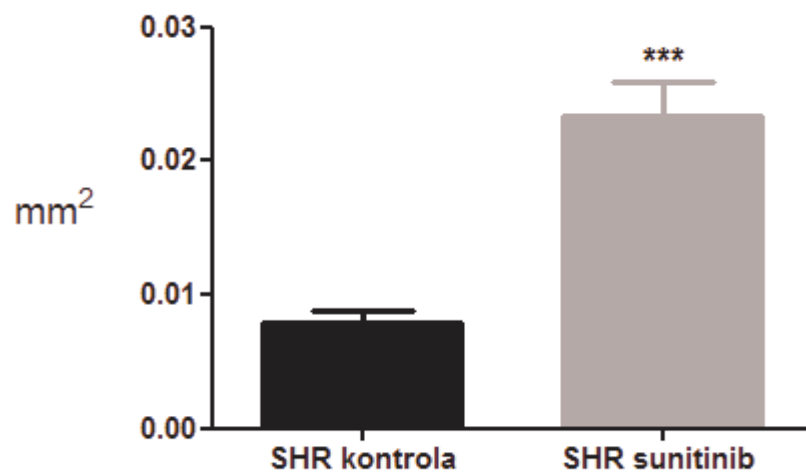
Podávání sunitinibu neovlivnilo expresi endotelinu u WKY potkanů ($0,007893 \pm 0,002408$ versus $0,0096 \pm 0,001576$ mm², $P = 0,56$) (graf 1).

Na druhou stranu podávání sunitinibu významně zvýšilo expresi endotelinu na cévním endotelu u SHR potkanů ($0,007893 \pm 0,0009001$ versus $0,02331 \pm 0,002630$ $0,02331 \pm 0,002630$, $P = 0,0002$) (graf 2). Pokud jsme však porovnali expresi endotelinu mezi WKY a SHR potkany bez sunitinibu, nebyly pozorovány žádné rozdíly v jejich expresi ($0,007893 \pm 0,002408$ versus $0,0096 \pm 0,001576$, $P = 0,5664$) (graf 3).

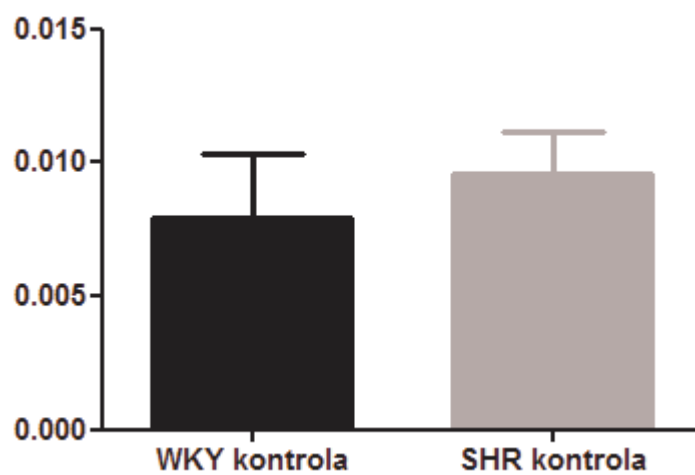
Graf 1: Stereologická analýza exprese endotelinu v aortě u WKY potkanů



Graf 2: Stereologická analýza exprese endotelinu v aortě u SHR potkanů



Graf 3: Stereologická analýza exprese endotelinu v aortě u SHR a WKY potkanů bez sunitinibu



8 DISKUZE

Sunitinib je malá molekula tyrosinkinázových inhibitorů (SMTKIs), která se váže mimo jiné na receptor vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGFR), destičkového růstového faktoru, Flt-3, Kit, Raf, Ret a na receptor kolony stimulující faktor 1 (CSF-1R) (95). SMTKIs jsou organizací U.S. Food and Drug Administration (FDA) schváleny pro použití v léčbě mnoha pokročilých rakovin zahrnující gastrointestinální nádor (GISTs), rakovinu jaterní buňky (HCC) a renální buněčný karcinom (RCC). K hlavním mimokardiálním vaskulárním nežádoucím účinkům patří hypertenze, krvácení, tromboembolie a perforace (96).

Hypertenze je jedna z nejčastěji popisovaných vedlejších účinků terapie inhibitory VEGF (VEGFI). Nekontrolovaná hypertenze může vést k vážným následkům zahrnujícím aterosklerózu, infarkt myokardu, mozkové příhody a onemocnění ledvin. Hypertenze navozená léčbou sunitinibem je závislá na dávce a odráží cílovou inhibici více než vedlejší účinky. Sám účinek SMTKIs je totiž úzce spjat s potenciálem inhibovat receptor 2 pro vaskulární endoteliální faktor (VEGFR-2), což souvisí i s následnými dopady na krevní tlak. SMTKIs působící vyšší hodnoty hypertenze, jako jsou axinib a cediranib, potlačují VEGFR-2 při nižší koncentraci než sorafenib a sunitinib, kteří se váží k dalším cílovým molekulám s vyšší afinitou (97).

V této práci jsme se zaměřili na změny endoteliální exprese ET-1, které mohou být zodpovědné za rozvoj hypertenze v závislosti na svých vazokonstrikčních účincích (98). Vyjma vasokonstrikčního účinku má ET-1 důležitou roli v řízení ledvino-tubulární výměny solí a vody, které může též souviset s iniciací vzniku hypertenze (99).

Studie na potkanech prokázala zvýšení jak krevního tlaku, tak plasmatického ET-1. Po vysazení sunitinibu obě sledované hodnoty opět klesly (92). Otázka zní, zda-li zvýšení ET-1 souvisí se zvýšením krevního tlaku z cévní toxicity sunitinibu.

V této práci jsme prokázali, že ET-1 je produkován hlavně endotelovými buňkami. Na druhou stranu, *in vitro* podávání sunitinibu

nevedlo ke zvýšenému množství ET-1 u endoteliálních buněk. To poukazuje na možnost, že nejen endoteliální ale i jiné buňky jsou schopny produkovat ET-1 (92). Zároveň se nám nepodařilo prokázat rozdílnost exprese ET-1 mezi WKY a SHR potkany, kterým nebyl podáván sunitinib. Z tohoto důvodu se domníváme, že sama hypertenze není zodpovědná za změny exprese endotelinu u těchto zvířat. Navíc léčba sunitinibem nemá vliv na expresi ET-1 u WKY potkanů. Po léčbě sunitinibem bylo prokazatelné zvýšení exprese ET-1 pouze u SHR potkanů. V tomto případě je zvýšená exprese ET-1 přímo závislá na vaskulární toxicitě sunitinibu. Vysvětlením může být samotný fakt, že jak vysoký krevní tlak, tak léčba sunitinibem ovlivnili vaskulární endotelium a způsobily zvýšenou expresi ET-1. Navíc zůstává nejasné, zda-li je hladina ET-1 zvýšená proto, že vzrostla produkce ET-1 nebo kvůli zhoršenému odstraňování vazby ET-1 na receptor. Toto mohlo být objasněno měřením prekurzorového peptidu v syntéze ET-1, v klinických studiích a ve studiích se zvířaty v artériích, srdci a ledvinách.

Tato studie ukázala, že podávání sunitinibu zvyšuje expresi ET-1 pouze u SHR potkanů. Domníváme se, že sunitinib ovlivňuje krevní tlak napadením vaskulárního endotelia. Toto by muselo být potvrzeno studiem dalších markerů v nadcházejících studiích.

9 ZÁVĚR

Cílem této rigorózní práce bylo kvantifikovat expresi endotelinu v aortě u spontánně hypertenzních potkanů a normotenzních potkanů po podávání sunitinibu.

Imunohistochemická analýza prokázala expresi endotelinu zejména na cévním endotelu u všech skupin zvířat.

Stereologická analýza prokázala statisticky významný nárůst exprese endotelinu pouze u hypertenzních zvířat po podávání sunitinibu.

V současné době však stále není znám mechanismus jak přesně sunitinib může ovlivňovat expresi endotelinu, což bude předmětem dalšího studia.

10 SEZNAM ZKRATEK

ACE	Angiotenzin konvertující enzym
ACEI	Inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu
ACTH	Adrenokortikotropní hormon (kortikotropin)
ADH	Antidiuretický hormon
ADR	Agonisté dopaminových receptorů
AH	Arteriální hypertenze
ANP	Atriální natriuretický peptid
ANS	Autonomní nervová soustava
ATC	Anatomicko-terapeuticko-chemická klasifikace léčiv
ATP	Adenosintrifosfát
BMI	Index tělesné hmotnosti (body mass index)
BNP	Natriuretický peptid typu B
BSA	Bovinní sérový albumin
CMP	Cévní mozková příhoda
CNP	Cévní natriuretický peptid
CNS	Centrální nervová soustava
CSF-1R	Receptor kolonie stimulujícího faktoru
CYP	Cytochrom
DAB	Diaminobenzidin
DM	Diabete mellitus
dTK	Diastolický tlak krve
ECE	Endotelinkonvertující enzym
ESC	European Society of Cardiology (Evropská společnost pro kardiologii)
ESH	European Society of Hyperzension (Evropská společnost pro hypertenzi)
ET-1	Endotelin-1
ETA, ETB	Receptor A a B pro endotelin
FDA	Food and Drug Administration

Flt-3	Fms-like tyrosine kinase-3
GIST	Gastrointestinální stromální tumor
H ₂ O ₂	Peroxid vodíku
HCC	Hepatocelulární karcinom
HDL	Lipoproteiny o vysoké hustotě (high density lipoproteins)
HF	Heart failure (selhání srdce)
Hg	Rtuť
CHD	Coronary heart disease (koronární onemocnění srdce)
ICAM-1	Mezibuněčná adhezní molekula-1 (intercellular cell adhesion molekule-1)
IDF	International Diabetes Federation (Mezinárodní federace pro diabetes)
ICHDK	Ischemická choroba dolních končetin
ICHS	Ischemická choroba srdeční
IMAO	Inhibitory monoaminoxidázy
ISH	International Society of Hypertension (Mezinárodní společnost pro hypertenzi)
KA	Katecholaminy
Kit	Receptor faktoru nádorových kmenových buněk
KV	Kardiovaskulární
KVO	Kardiovaskulární onemocnění
LVH	Left ventricular hypertrophy (levostranná srdeční hypertrofie)
mRNA	Mediátorová/informační ribonukleotidová kyselina (messenger RNA)
MS	Metabolický syndrom
MSV	Minutový srdeční výdej
Na ⁺	Sodík
NaCl	Chlorid sodný
NO	Oxid dusnatý (nitric oxide)
OCT	Tissue freezing medium (zmrazovací směs)

Pb	Olovo
PBS	Fosfátový pufr
PCR	Periferní cévní rezistence
PDGFR-a, b	Receptory pro růstové faktory destiček
PGI ₂	Prostacyklin
PRE-PROET-1	Pre-proendotelin
RAA	Renin-angiotensin-aldosteron
RAAS	Renin-angiotenzin-aldosteronový systém
Raf	Receptor faktoru nádorových kmenových buněk
RCC	Renální buněčný karcinom
RET	Glial cell-line derived neurotrophic factor receptor (receptor pro neurotrofický faktor odvozený od gliálních buněk)
RKTs	Tyrozinkinázové receptory
SANS	Sympatický autonomní nervový systém
SEM	Střední chyba průměru
SHR	Spontaneously hypertensive rats (spontánně hypertenzní potkani)
SMTKIs	Malé molekuly tyrosinkinázových inhibitorů
SO	Systolický objem
SSA	Syndrom spánkové apnoe
sTK	Sympatický tlak krve
TCA	Tricyklická antidepressiva
TG	Triglyceridy
Th	Thorium
TIA	Tranzitorní ischemická ataka
TK	Tlak krve
TSH	Tyreotropní hormon
VEGFR	Vascular endothelial growth factor receptor (receptor vaskulárního endoteliálního faktoru)
WHO	Světová zdravotnická organizace
WKY	Wistar Kyoto potkani

11 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- (1) DÍTĚ, P. a kol. *Vnitřní lékařství*. 2. vyd. Praha: Galén, 2007. [s. 12-18]. ISBN 978-80-7262-496-6.
- (2) ŽÁK, A.; PETRÁŠEK, J. *Základy vnitřního lékařství*. 1. vyd. Praha: Galén, 2011. [s. 167-168]. ISBN 978-80-7262-697-7.
- (3) LUKL, J. *Klinická kardiologie stručně*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2004. [s. 125-131]. ISBN 80-244-0876-7.
- (4) KAREN, I.; WIDIMSKÝ jr., J. *Doporučení diagnostických a léčebných postupů u arteriální hypertenze. Doporučený diagnostický a léčebný postup pro všeobecné praktické lékaře*. Praha. Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP, 2008. [s. 1-2]. ISBN: 80-86998-20-7.
- (5) HRADEC, J.; BÝMA, S. *Ischemická choroba srdeční - novelizace 2009. Doporučený diagnostický a léčebný postup pro všeobecné praktické lékaře*. Praha: Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP, 2009. [s. 2]. ISBN 978-80-86998-36-7.
- (6) ŠPINAR, J.; VÍTOVEC, J. a kol. *Ischemická choroba srdeční*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2003. [s. 264-265]. ISBN 80-247-0500-1.
- (7) VLČEK, J.; FIALOVÁ, D. a kol. *Klinická farmacie I*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2010. [s. 73-80]. ISBN 978-80-247-3169-8.
- (8) KLENER, P. et al. (ed.). *Kardiologie, angiologie*. Vnitřní lékařství. Svazek 2. 1. vyd. Praha: Galén, 2001. [s. 81-87]. ISBN 80-7262-106-8.
- (9) POVÝŠIL, C.; ŠTEINER, I. *Speciální patologie*. 2. vyd. Praha: Galén, 2007. [s. 28-29]. ISBN 978-80-7262-494-2.
- (10) KEARNEY, PM.; WHELTON, H.; REYNOLDS, K. et al. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet*. 2005, vol. 365, s. 217-23.
- (11) SOREL, JE.; RAGLAND, DR.; SYME, SL. Blood pressure in Mexican Americans whites, and blacks. National Health and Nutrition Examination Survey and the Hispanic Health and

- Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol.* 1991, vol. 134, s. 370-8.
- (12) ŠTEJFA, M. *Kardiologie*. 3. přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2007. [s. 539-544]. ISBN 978-80-247-1385-4.
 - (13) ASCHERMANN, M. a kol. *Kardiologie*. 1. vyd. Praha: Galén, 2004. [s. 418-421]. ISBN 80-7262-290-0.
 - (14) ELLIOT, P.; STAMLER, J.; NICHOLS, R. et al. for the Intersalt Cooperative Research Group. Intersalt revisited: further analyses of 24-hour sodium excretion and blood pressure within and across populations. *Br Med J.* 1996, vol. 312, s. 1249-53.
 - (15) WEINBERGER, MH. Salt sensitivity of blood pressure in humans. *Hypertension*. 1996, vol. 27, s. 481-90.
 - (16) KLATSKY, AL.; FRIEDMAN, GD.; SIEGELAUB, MJ. et al. Alcohol consumption and blood pressure. Kaiser-Permanente Multiphasic Health Examination Data. *N Engl J Med.* 1977, vol. 296, no. 21, s. 1194-200.
 - (17) PUDDEY, IB.; PARKER, M.; BEILIN, L. et al. Effects of alcohol and caloric restrictions on blood pressure and serum lipids in overweight men. *Hypertension*. 1992, vol. 20, s. 533-41.
 - (18) WIDIMSKY, J. a kol. *Hypertenze*. 3. vyd. Praha: Triton, 2008. 705 s. ISBN: 978-80-7387-077-5.
 - (19) WHELTON, SP.; CHIN, A.; XIN, X. et al. Effect of aerobic exercise on blood pressure: a metaanalysis of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med.* 2002, vol. 136, s. 493-503.
 - (20) PESCATELLO, LS.; FRANKLIN, B., FAGARD, R. et al. American College of Sports Medicine Position Stand: Exercise and hypertension. *Med Sci Spors Exerc.* 2004, vol. 36, s. 533- 553.
 - (21) SHAPER, AG.; POCOCS, SJ.; WALKER, M et al. British Regional Heart Study: cardiovascular risk factors in middle-aged men in 24 towns. *Br Med J.* 1981, vol. 283, s. 179-86.
 - (22) KUMAR, V. et al. *Robbins basic pathology*. 8th ed. Philadelphia: Saunders/Elsevier, 2007. [s. 353-357]. ISBN 978-1-4160-2973-1.

- (23) RUNGE, MS.; OHMAN, M. *Netter's cardiology*. 1st ed. Teterboro, N.J.: Icon Learning Systems, 2004. [s. 397-398]. ISBN 1-92900705-1.
- (24) KUMAR, V.; ABBAS, AK.; FAUSTO, N. *Robbins and Cotran pathologic basis of disease*. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, c2005. [s. 525-530]. ISBN 0-7216-0187-1.
- (25) <http://www.nature.com/nrg/journal/v7/n11/images/nrg1967-f1.jpg> (22. 12. 2012).
- (26) KITTNAR, O. *Lékařská fyziologie*. 1. vyd. Praha: Grada, 2011. [s. 181-185]. ISBN 978-80-247-3068-4.
- (27) TROJAN, S. *Lékařská fyziologie*. Vyd. 4., přepracované a doplněné. Praha: Grada, 2003. [s. 203-211]. ISBN 80-247-0512-5.
- (28) LANGMEIER, M. *Základy lékařské fyziologie*. 1. vyd. Praha: Grada, 2009. [s. 77]. ISBN 978-80-247-2526-0.
- (29) SOUČEK, M; KÁRA, T. *Klinická patofyziologie hypertenze*. 1. vyd. Praha: Grada, 2002, 649 s. ISBN 80-247-0227-4.
- (30) <http://www.remédia.cz/Images/Articles/Main/vtextu2006110610351.jpg> (30. 10. 2012).
- (31) RUBIN, R.; STRAYER, DS. et al. (ed.). *Rubin's Pathology : clinicopathologic foundations of medicine*. 5th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2008. [s. 408-411]. ISBN 978-07817-9516-6.
- (32) <http://jasn.asnjournals.org/content/20/9/1888/F4.large.jpg> (22. 12. 2012).
- (33) ABBOUND, FM. The sympathetic system in hypertension. *State-of-the-art review. Hypertension*. 1982, vol. 4, s. 208.
- (34) ANDERSON, EA. et al. Elevated sympathetic nerve activity in borderline hypertensive humans: Evidence from direct intraneural recordings. *Hypertension*. 1989, vol. 14, s. 177.
- (35) JULIUS, S. et al. Hyperkinetic borderline hypertension in Tecumseh, Michigan. *J Hypertens*. 1991, vol. 9, s. 77.

- (36) JULIUS, S. et al. The association of borderline hypertension with target organ changes and high coronary risk. *Tecumseh Blood Pressure Study. JAMA*. 1990, vol. 264, s. 354.
- (37) ESLER, M.; LAMBERT, G.; JENNINGS, G. Increased regional sympathetic nervous activity in human hypertension. Causes and consequences. *J Hypertens*. 1990, vol. 8, s. 53.
- (38) MARK, AL.; Regulation of sympathetic nerve activity in mild human hypertension. *J Hypertens*. 1990, vol. 8, s. 67.
- (39) VOJÁČEK, J.; KETTNER, J. (ed.). *Klinická kardiologie*. 1. vyd. Hradec Králové: Nucleus HK, 2009. [s. 209-236]. ISBN 978-80-87009-58-1.
- (40) KAPLAN, NM. et al. *Clinical hypertension*. Williams Wilkins, 7. vyd. Baltimore: 1998. s. 444.
- (41) SIEWERT, TA. et al. Does treated primary hypertension lead to end-stage renal disease? A 20-year follow-up of the Primary Prevention Study in Göteborg, Sweden. *Nephrol Dial Transplant*. 1998, vol. 13, s. 3084-3090.
- (42) LAZARUS, JM. et al. Achievement and safety of a low blood pressure goal in chronic renal disease. *Hypertension*. 1997, vol. 29, s. 641-650.
- (43) MAILLOUX, LU.; LEVEY, AS. Hypertension in patients with chronic renal disease. *Am J Kidney Dis*. 1998. vol. 32, s. 120-141.
- (44) ČEŠKA, R.; TESAŘ, V.; DÍTĚ, P.; ŠTULC, T. *Interna*. Vyd. 1. Praha: Triton, 2010. [s. 140-142]. ISBN 978-80-7387-423-0.
- (45) BALL, EM.; SIMON, RD jr. TALL, AA. et al. Diagnosis and treatment of sleep apnea within the community. *Arch Intern Med*. 1997, vol. 157, s. 419-424.
- (46) SOMERS, VK.; DYKEN, ME.; CLARY, MP. et al. Sympathetic neural mechanisms in obstructive sleep apnoe. *J Clin Invest*. 1995, vol. 96, s. 1897-1904.
- (47) <http://img.medscape.com/slide/migrated/editorial/cmeline/2008/14909/images/slide35.jpg> (22. 12. 2012).

- (48) SAFAR, M. Arteries in clinical hypertension. Philadelphia, Lippincott-Raven 1994.
- (49) COOPER, A.; HEAGERTY, AM. Blood pressure parameters as determinants of small artery structure in human essential hypertension. *Clin Sci*. 1997, vol. 92, s. 551-7.
- (50) MITCHELL, JRA.; ADAMS, JH. Aortic size and aortic calcification: a necropsy study. *Atherosclerosis*. 1977, vol. 27, s. 437-46.
- (51) FILIPOVSKÝ, J.; BINGHAM, A.; DUCIMETIÈRE, P. Epidémiologie. In: Asmar R: Prise en charge de l'hypertension artérielle: physiopathologie et méthodes de mesure de la pression artérielle. Paris, *Communication Globale Santé*. 2000, s. 4-11.
- (52) BRILLA, CG.; ZHOU, G.; MATSUBARA, L. et al. Collagen metabolism in cultured adult rat cardiac fibroblasts: response to angiotension II and aldosterone. *J Moll Cell Cardiol*. 1994, vol. 26, s. 809-820.
- (53) HORKÝ, K. Patofyziologická úloha endotelinu u kardiovaskulárních onemocnění a možnosti jeho blokády. *Remedia*. 1998, vol. 6, s. 408-413.
- (54) FOUAD-TARAZI, FM.; IMAMURA, M.; BRAVO, EL. et al. Differences in left ventricular structural and functional changes between pheochromocytoma and essential hypertension. *Am J Hypertens*. 1992, vol. 5, s. 134-140.
- (55) WIDIMSKÝ, J. a kol. *Selhání srdce*. 5. vyd. Praha: Triton, 2009. 168 s. ISBN 978-80-7387-295-3.
- (56) BRILLA, CG.; MATSUBARA, L.; WEBER, KT. Advanced hypertensive heart disease in spontaneously hypertensive rats: lisinopril-mediated regression of myocardial fibrosis. *Hypertension*. 1996, vol. 26, s. 269-275.
- (57) LIEBSON, PR.; GRANDITS, GA.; DIANZUMBA, S. et al. Comparison of five antihypertensive monotherapies and placebo for changes in left ventricular mass in patients receiving nutritional-hygienic therapy in the treatment of mild hypertension study. *Circulation*. 1995, vol. 91, s. 698-706.

- (58) WATANABE, K.; SEKIYA, M.; TSURUOKA, T. et al. Effects of insulin resistance on left ventricular hypertrophy and dysfunction in essential hypertension. *J Hypertens.* 1999, vol. 17, s. 1153-1160.
- (59) SASSON, Z.; RASOOLY, Y.; RHESANIA, T. et al. Insulin resistance in an important determinant of left ventricular mass in the obese. *Circulation.* 1993, vol. 88, s. 1431-1436.
- (60) LEVY, D.; LARSON, MG.; VASAN, RS. et al. The progression from hypertension to congestive heart failure. *JAMA.* 1996, vol. 275, s. 1557-1562.
- (61) LIP, GYH.; FELMENDEN, DC.; LI-SAW-HEE, FL. et al. Hypertensive heart disease. A complex syndrome or a hypertensive „cardiomyopathy“? *Eur Heart J.* 2000, 21, 1653-1665.
- (62) Prospective studies collaborators. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet.* 2002, vol. 360, s. 1903-13.
- (63) BENETOS, A.; THOMAS, F.; BEAN, K. et al. Prognostic value of systolic and diastolic blood pressure in treated hypertensive men. *Arch Intern Med.* 2002, vol. 162, s. 577-81.
- (64) TSANG, TS.; BARNES, ME.; GERSH, BJ. et al. Risks for atrial fibrillation and congestive heart failure in patients ≥ 65 years of age with abnormal left ventricular diastolic relaxation. *Am J Cardiol.* 2004, vol. 93, s. 54-58.
- (65) McLENACHAN, JM.; HENDERSON, E.; MORRIS, KI. et al. Ventricular arrhythmias in hypertensive left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med.* 1987, vol. 317, s. 787-792.
- (66) McLENACHAN, JM.; DARGIE, HJ. Ventricular arrhythmias in hypertensive left ventricular hypertrophy: relationship to coronary artery disease, left ventricular dysfunction and myocardial fibrosis. *Am J Hypertens.* 1990, vol. 3, s. 735-740.

- (67) SCHILLACI, G.; PIRRO, M.; VAUDO, G. et al. Prognostic value of the metabolic syndrome in essential hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 2004, vol. 43, s. 1817-22.
- (68) JEPPENSEN, J.; HEIN, HO.; SUADICANI, P. et al. Low triglycerides-high high-density lipoprotein cholesterol and risk of ischemic heart disease. *Arch Intern Med.* 2001, vol. 16, s. 361-6.
- (69) MORRISH, NJ.; STEVENS, LK.; HEAD, J. et al. A prospective study on mortality among middle-aged diabetic patients. *Diabetologia.* 1990, vol. 33, s. 542-548.
- (70) OSLER, JR.; METERSON, BJ.; EPSTEIN, M. Diabetes mellitus and hypertension. *Cardiovasc Risk Factors.* 1990, vol. 1, s. 25-46.
- (71) BRANČÍKOVÁ, D.; ADÁMKOVÁ KRÁKOROVÁ, D. Sunitinib. *Remedia*, 2008.
- (72) <http://cdn.medicosconsultants.com/images/monograph/43a4d7f8-48ae-4a63-9108-2fa8e3ea9d9c/sutent-01.jpg> (28. 9. 2012).
- (73) O FARRELL, AM.; ABRAMS, TJ.; YUEN, HA. et al. SU11248 is a novel flt3 tyrosine kinase inhibitor with potent activity in vitro and in vivo. *Blood.* 2003, vol. 101, s. 3597-3605.
- (74) SUTENT: souhrn údajů o přípravku, AISLP verze 2008.2 – 1.4.2008.
- (75) <http://www.remmedia.cz/Images/Articles/Main/vtextu20081016022255.jpg> (28. 9. 2012).
- (76) VAN BRONSWIJK, H.; DUBOIS, EA.; OSANTO, S.; et al. [New drugs; sunitinib and sorafenib]. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2007, vol. 29, s. 2888-90.
- (77) IZZEDINE, H.; EDERHY, S.; GOLDWASSER, F. Management of hypertension in angiogenesis inhibitor-treated patients. *Ann Oncol.* 2009, vol. 20, s. 807-15.
- (78) ADAMS, TJ.; LEE, LB.; MURRAY, LJ. et al. SU11248 inhibits kit and platelet-derived growth factor receptor {beta} in preclinical models of human small cell lung cancer. *Mol Cancer Ther.* 2003, vol. 2, s. 471-478.

- (79) MENDEL, DB.; LAIRD, AD.; XIN, X. et al. In vivo antitumor activity of SU11248, a novel tyrosine kinase inhibitor targeting vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor receptors: Determination of a pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship. *Clin Cancer Res.* 2003, vol. 9, s. 327-337.
- (80) DEEKS, ED.; KEATING, GM. Sunitinib. *Drugs.* 2006, vol. 66, s. 2255-66.
- (81) HENG, DY.; KOLLMANNSBERGER, C. Sunitinib. *Recent Results Cancer Res.* 2010, vol. 184, s. 71-82.
- (82) VAN DER VELDT, AA.; VAN DEN EERTWEGH, AJ.; BOVEN, E. [Adverse effects of the tyrosine-kinase inhibitor sunitinib, a new drug for the treatment of advanced renal-cell cancer]. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2007. vol. 151, s. 1142-7.
- (83) FAIVRE, S.; DELBALDO, C.; VERA, K. et al. Safety, Pharmacokinetic, and Antitumor Activity of SU11248, a Novel Oral Multitarget Tyrosine Kinase Inhibitor, in Patients With Cancer. *J Clin Oncol.* 2006, vol. 24, s. 25-35.
- (84) KOLLMANNSBERGER, C.; SOULIERES, D.; WONG, R. et al. Sunitinib therapy for metastatic renal cell carcinoma: recommendations for management of side effects. *Can Urol Assoc J.* 2007, vol. 1, s. 41-54.
- (85) MOTZER, RJ.; HUTSON, TE.; TOMCZAK, P. et al. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *New Engl J Med.* 2007, vol. 356, s. 115-24.
- (86) DAHER, IN.; YEH, ET. Vascular complications of selected cancer therapies. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2008, vol. 5, s. 797-805.
- (87) KAPPERS, MH.; VAN ESCH, JH. Sluiter W Hypertension induced by the tyrosine kinase inhibitor sunitinib is associated with increased circulating endotelin-1 levels. *Hypertension.* 2010, vol. 56, s. 675-81.

- (88) TESAŘ, V.; SCHÜCK, O. *Klinická nefrologie*. 1. vyd. Praha: Grada, 2006. [s. 458]. ISBN 80-247-0503-6.
- (89) VOJÁČEK, J.; MALÝ, M. *Arteriální a žilní trombóza v klinické praxi*. 1. vyd. Praha: Grada, 2004. [s. 26-29]. ISBN 80-247-0501-x.
- (90) NAIKER, S.; NAIDOO, S.; NAICKER, T. Immunolocalisation and endothelin-1 values In pre-eclampsia: an immunocytochemical study. *J Obstet Gynaecol*. 2001, vol. 21, s. 39-45.
- (91) KAPPERS, MH.; VAN ESCH, JH.; SLUITER, W. et al. Hypertension induced by the tyrosine kinase inhibitor sunitinib is associated with increased circulating endothelin-1 levels. *Hypertension*. 2010, vol. 56, s. 675-81.
- (92) DHAUN, N.; WEBB, D. Receptor Tyrosine Kinase Inhibition, Hypertension, and Proteinuria Is Endothelin the Smoking Gun? *Hypertension*. 2010, vol. 56, s. 575-7.
- (93) DHAUN, N.; GODDARD, J.; KOHAN, DE. et al. Role of Endothelin-1 in Clinical Hypertension. *Hypertension*. 2008, vol. 52, s. 452-459.
- (94) <http://hyper.ahajournals.org/content/56/4/575/F1.medium.gif> (15. 12. 2012).
- (95) FAIVRE, S.; DEMETRI, G.; SARGENT, W.; RAYMOND, E. Molecular basis for sunitinib efficacy and future clinical development. *Nat Rev Drug Discov*. 2007, vol. 6, s. 734-745.
- (96) PAPAETIS, GS.; SYRIGOS, KN. Sunitinib: a multitargeted receptor tyrosine kinase inhibitor in the era of molecular cancer therapies. *BioDrugs*. 2009, vol. 23, s. 377-389.
- (97) RIVERA, F.; BENOUNNA, M.; SANCHEZ, MD. Sunitinib-aggravated hypertension. *J Hypertens*. 2009, vol. 27, s. 1502-1503.
- (98) MASAKI, T. Possible role of endothelin in endothelial regulation of vascular tone. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1995, vol. 35, s. 235-255.
- (99) NEYLON, CB. Vascular biology of endothelin signal transduction. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1999, vol. 26, s. 149-153.